

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Année 1935-1936

N° 20

Contribution à l'Étude du Philothion

Variations dans l'Avitaminose B et l'Inanition

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme
de Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie)

Présentée et soutenue le 10 Juin 1936

PAR

M. Jean DUPILLE

Ex-Interne des Hôpitaux de Paris
Ancien Chargé de Conférences à l'École des Hautes Études
Lauréat de la Faculté de Pharmacie de Paris

JURY { MM. FABRE, *Président.*
HÉRISSEY, *Professeur.*
FLEURY, *Agrégé.*



PARIS
IMPRIMERIE CAUBÈRE
75, Avenue Jean-Jaurès, 75

1936



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Année 1935-1936

N° 20

Contribution à l'Étude du Philothion

Variations dans l'Avitaminose B et l'Inanition

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme

de Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie)

Présentée et soutenue le 10 Juin 1936

PAR

M. Jean DUPILLE

Ex-Interne des Hôpitaux de Paris

Ancien Chargé de Conférences à l'École des Hautes Études

Lauréat de la Faculté de Pharmacie de Paris

JURY } MM. FABRE, *Président.*
HÉRISSEY, *Professeur.*
FLEURY, *Agrégé.*

PARIS

IMPRIMERIE CAUBÈRE

75, Avenue Jean-Jaurès, 75

1936

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM. GUERIN, *Doyen*, O. ✱, ☼ I.
P. LEBEAU, *Assesseur* O. ✱, ☼ I.
P. DESPORT, *Secrétaire*, ✱, ☼ I.

PROFESSEURS

MM. GUERIN, O. ✱, ☼ I. Botanique générale.
PERROT, C. ✱, ☼ I. Histoire naturelle des médicaments.
COUTIERE, O. ✱, ☼ I. Zoologie.
LEBEAU, O. ✱, ☼ I. Pharmacie chimique.
BOUGAULT, O. ✱, ☼ I. Chimie analytique.
GORIS, O. ✱, ☼ I. Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. ✱, ☼ I. Physique.
DAMIENS, ✱, ☼ I. Chimie minérale.
HERISSEY, O. ✱, ☼ I. Chimie biologique.
SOMMELET, ✱, ☼ I. Chimie organique.
LUTZ, ✱, ☼ I. Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, ✱, ☼ I. Toxicologie.
LAUNOY, O. ✱, ☼ I. Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. ✱, ☼ I.

Professeurs honoraires :

MM. BEHAL, G. O. ✱, ☼ I. et DELEPINE, O. ✱, ☼ I., membres de l'Institut,
et GUERBET, ✱, ☼ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc HONNORAT, ✱, ☼ I. Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. ✱, ☼ I. . . Pharmacodynamie.
DELABY, ✱, ☼ I. . . . Hydrologie et Hygiène.
PICON, ☼ I. Chimie minérale.
BACH, ☼ I. Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, ✱, ☼ A.
PICON, ☼ I.
MASCRE, ☼ I.
FLEURY, ☼ I.

MM. BACH, ☼ I.
BEDEL, ☼ I.
REGNIER, ☼ I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, ☼ I., *agrégré*, chargé des T. P. de 1^{re} année. Chimie générale.
FLEURY, ☼ I., et REGNIER, ☼ I. : *agrégrés*,
chargés des travaux de Chimie analytique.
SOUÈGES, ☼ I. Micrographie.
LEROUX, ✱, ☼ I. Physique.
DEVAL, ✱, ☼ I. Microbiologie.
DELABY, ✱, ☼ I., PICON, ☼ I., et MASCRE, ☼ I. :
agrégrés, chargés des travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en Chef : M. BERNARD, ☼ I.



THÈSE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU PHILOTHION

VARIATIONS DANS L'AVITAMINOSE B ET L'INANITION

PLAN GÉNÉRAL

Nous nous proposons dans ce travail, d'étudier la propriété réductrice des tissus sur le soufre, propriété due aux dérivés sulfhydrysés et particulièrement au philothion.

Pour cela nous établissons tout d'abord une méthode de dosage de l'hydrogène sulfuré formé dans la réaction.

Par ce mode d'évaluation du pouvoir réducteur, nous apportons ensuite notre contribution à l'étude de l'avitaminose B et de l' inanition.

Nous avons adopté le plan suivant :

1^{re} PARTIE. — *Contribution à l'étude du Philothion :*

- I. Historique avant la découverte du Glutathion.
- II. Mise au point actuelle de la question ; relation entre Glutathion et Philothion.
- III. Dosage d'une solution alcaline de sulfure par l'iode.
- IV. Description des techniques proposées pour absorber l'hydrogène sulfuré.
- V. Variations de la production d'hydrogène sulfuré.
- VI. Recherches personnelles sur l'origine de la propriété hydrogénante des tissus sur le soufre.
- VII. Résultats obtenus avec des tissus de différents animaux normaux.

2^e PARTIE. — *Application de la technique établie à l'étude de l'avitaminose B et de l'inanition.*

VIII. Introduction.

IX. Conduite des expériences : effets sur le poids, la température et la teneur en Glutathion.

X. Variations du pouvoir hydrogènant.

XI. Glutathion et Philothion dans l'inanition et l'Avitaminose B.

Conclusions.

PREMIÈRE PARTIE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU PHILOTHION

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE AVANT LA DECOUVERTE DU GLUTATHION

A — Le philothion de de Rey-Pailhade

C'est en 1888 que, pour la première fois, J. de Rey-Pailhade (79 et 80) constate que les tissus animaux et certains tissus végétaux, comme la levure de bière, sont capables d'hydrogéner le soufre pour donner de l'acide sulfhydrique. Les macérations aqueuses ou éthérées de levure de bière sont, pour cet auteur, sans action ; mais les préparations alcooliques (alcool à 86°) donnent également avec le soufre un dégagement d'hydrogène sulfuré. Le même traitement appliqué à un tissu animal (muscle et foie de bœuf, cerveau de mouton, intestin grêle d'agneau, muscle de poisson) ne permet pas d'obtenir une solution douée des mêmes propriétés, conservées au contraire par le résidu de l'épuisement. Par chauffage à 70°, la macération alcoolique de levure de bière se trouble et perd son pouvoir hydrogénant sur le soufre. Le traitement de la levure par des acides énergiques, des bases fortes, des sels neutres pulvérisés lui fait également perdre cette propriété. Le dégagement gazeux plus important à des températures de 35 à 40°, est caractérisé par le papier au sous-acétate de plomb et son importance appréciée par le même moyen, aucun dosage exact n'ayant été fait par l'auteur. De Rey-Pailhade conclut à l'existence dans les tissus d'une substance avide de soufre qu'il appelle, pour cela, le *philothion* (du grec φιλεω, j'aime, θειον, le soufre), ce corps existant sous une forme différente dans la levure de bière et les tissus animaux.

Plus tard (82) le même auteur complète l'étude des propriétés du philothion. Il l'extrait de la levure de bière par l'alcool à 22°, par une solution aqueuse de phénol, par une solution de fluorure de sodium à 1 p. 100 ou par une solution de tartrate de potassium. Il constate que vis à vis du soufre toutes ces solutions jouissent des mêmes propriétés que la levure elle-même. D'après lui le philothion est un produit non de sécrétion mais de synthèse, formé à l'abri de l'air et, notamment, dans les tissus animaux, il serait une matière albuminoïde, produit de fonctionnement des cellules. La macération alcoolique de levure, chauffée à 100° dans le vide, ou précipitée par

le bichlorure de mercure et d'autres sels métalliques, perdrait ses propriétés hydrogénantes sur le soufre.

D'autre part de Rey-Pailhade rapproche l'affinité des tissus pour le soufre de leur affinité pour l'oxygène :

1°) Une solution de levure (84), en présence de l'air, perd en deux ou trois jours sa propriété d'hydrogèner le soufre.

2°) Des poids égaux (81) de divers tissus d'un même animal transforment en hydrogène sulfuré des quantités inégales de soufre et la hiérarchie des tissus, établie en fonction de leur affinité vis à vis du soufre, se trouve identique à un classement basé sur l'absorption de l'oxygène.

3°) La consommation (86) d'oxygène de la levure de bière est due au philothion ; en effet l'addition de soufre à des cuves en fermentation fait cesser la production de CO^2 , c'est-à-dire arrête la fermentation, tandis qu'au contraire un dégagement d'hydrogène sulfuré peut être constaté.

4°) De Rey-Pailhade (85) démontre également le rôle d'un « philothion » dans des graines en germination.

Ces faits, constatés de 1890 à 1900, permettent à ce savant de vérifier alors (83) l'hypothèse qu'il formulait déjà en 1889 (81) en assignant au philothion un rôle dans la respiration des tissus, le soufre ajouté in vitro par l'auteur ayant la même action que l'oxygène emprunté in vivo soit au milieu extérieur par la levure, soit au sang par les tissus animaux.

En définitive, vers 1900, de Rey-Pailhade avait prouvé la présence, dans les tissus animaux et dans la levure de bière, d'un corps appelé philothion, existant sous plusieurs formes, douées de solubilités différentes, de nature albuminoïde, de formule RH se rapprochant de l'hydrogène sulfuré $\text{S}^{1/2}\text{H}$ car, comme ce dernier, il est détruit par l'oxygène libre, réduit par le carmin d'indigo et précipité par un grand nombre de sels métalliques.

L'œuvre de ce savant fut donc celle d'un précurseur et ses découvertes, critiquées d'abord, presque ignorées ensuite, ont ouvert la voie à des séries de recherches très fructueuses sur le rôle dans la respiration des tissus de certains corps possédant un atome d'hydrogène labile.

A la même époque, en 1891, Roesing (104) obtient un dégagement d'hydrogène sulfuré par action du soufre sur de l'albumen d'œuf de poule, il constate que le phénomène, d'une durée de 48 heures, n'est pas supprimé par les antiseptiques ne précipitant pas l'albumine, mais que l'action est détruite par les oxydants (ferricyanure, permanganate, iode) ou bien par la chaleur à 100° . Roesing, sans attribuer à ces faits une portée aussi grande que de Rey-Pailhade, conclut seulement à l'action d'une diastase hydrogénante.

En 1903, les expériences de Abelous et Ribaut (6 et 7), étudiant l'action du soufre sur de l'albumine, des extraits d'organes et des

extraits de levure de bière, leur permirent de constater une augmentation progressive de l'hydrogène sulfuré produit par le chauffage à 30°, 50°, 70°, 100° et même 120° et d'affirmer que « le philothion en tant qu'hydrogénase n'existe pas ». Ces auteurs sont donc en contradiction formelle avec de Rey-Pailhade et Roesing sur la nature diastasique du phénomène et notamment sur la destruction de la propriété hydrogénante par chauffage à 100°. Il est à signaler qu'en 1903 également Abelous et Gérard (5), Abelous et Aloy (3 et 4) attribuent à une diastase oxydo-réductrice la propriété des tissus de transformer les nitrates en nitrites et l'aldéhyde salicylique en acide. L'hypothèse d'une diastase est donc admise par Abelous et ses collaborateurs, sauf dans le cas de l'hydrogénation du soufre.

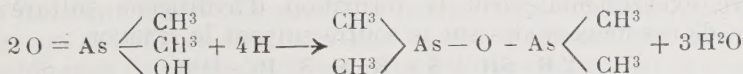
Pozzi-Escot (62), après avoir reproduit et comparé les expériences de de Rey-Pailhade et de Abelous et Ribaut, pense que ces derniers ont confondu une action de décomposition brutale, violente, purement chimique avec l'action diastasique illimitée, cette dernière étant la véritable action du soufre sur les tissus.

Après des précisions apportées par Abelous et Ribaut (8), de Rey-Pailhade intervient (87 et 88) et ne consent à considérer comme contenant du philothion que les corps albumineux donnant, avec le soufre, de l'hydrogène sulfuré à 40-50° ; il pense qu'à des températures supérieures il s'opère vraisemblablement dans les albumines des transformations expliquant une production d'hydrogène sulfuré.

De ces premiers travaux, il reste comme certain l'existence dans les tissus d'une substance albuminoïde, appelée par de Rey-Pailhade « philothion », possédant un atome d'hydrogène labile et capable de retenir, sous une forme encore indéterminée, l'oxygène qu'elle libère ensuite pour servir aux oxydations anaérobies. Ce philothion agit sur le soufre pour donner de l'hydrogène sulfuré, il n'agit pas en milieu franchement acide ou alcalin, il perd ses propriétés par le chauffage ; mais cependant il agit brutalement, sans doute par décomposition, à des températures dépassant 100°. Un premier stade est franchi dans l'explication des phénomènes qui régissent la respiration tissulaire.

B. — Rôle des dérivés sulphydrylés.

En 1904, dans un important mémoire, Heffter et Hausmann (34) exposent leurs travaux sur cette hydrogénation du soufre et cherchent une explication à ce fait ainsi qu'à d'autres réductions tissulaires. Ils reprennent les expériences de de Rey-Pailhade, Roesing, Abelous, Pozzi-Escot en les rapprochant d'autres phénomènes de réduction dus aux tissus tels que la transformation de l'acide cacodylique en oxyde de cacodyle :



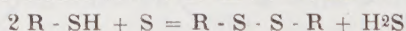
Heffter et Hausmann étudient d'abord, comme Roesing, l'action du soufre sur le blanc d'œuf de poule, mais font en outre des déterminations quantitatives en absorbant l'hydrogène sulfuré dans des tubes à boules en milieu oxydant de façon à doser par pesée, à l'état de sel de baryum, les sulfates formés ; ils constatent une légère diminution par le fluorure de sodium, tandis que le toluène et le chloroforme n'influencent pas de façon notable le dégagement. Les chiffres obtenus à 40° sont un peu supérieurs à ceux obtenus à la température de la chambre. L'acidification empêche le phénomène qui réapparaît si on neutralise l'acide. Les sels neutres n'influencent pas (fait déjà constaté par de Rey-Pailhade), comme le croyait Roesing, mais retardent le dégagement de l'hydrogène sulfuré. En traitant par l'alcool à 95° en grande quantité, c'est le coagulum et non le filtrat qui est doué de cette propriété de l'albumen. La chaleur et le temps, l'acide carbonique, le ferrocyanure ne changent rien ; au contraire la propriété est diminuée par les oxydants comme le perchlorure de fer, le sulfate de cuivre et par la digestion pepsique. Recherchant ensuite dans l'albumen le composant doué de cette action réductrice, les auteurs la trouvent exclusivement dans l'ovalbumine.

Ils étudient ensuite, comme de Rey-Pailhade et Roesing, l'action du soufre sur le sang et concluent, après avoir éliminé tous les autres facteurs, que seul un produit, contenu dans les globules rouges, est capable d'hydrogéner le soufre.

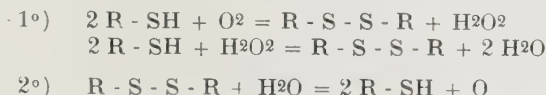
Sur les tissus Heffter et Hausmann, dans quelques expériences quantitatives sur le foie de veau, constatent une diminution par addition de fluorure de sodium, une durée de dégagement de 48 heures environ et par ébullition ils ne parviennent pas à empêcher le phénomène.

Enfin, après avoir rapproché tous ces phénomènes des autres réductions, iodates en iodures, sulfate de sodium en hydrogène sulfuré, nitrates en nitrites, acide arsénique en acide arsénieux, ils concluent, fait déjà prouvé par de Rey-Pailhade, à la présence certaine dans l'organisme de corps albumineux possédant un atome d'hydrogène labile et émettent de plus l'hypothèse de composés possédant un groupement sulphydrylé et se transformant en disulfure sous l'action du soufre.

Quelques années plus tard, Buffa (18), employant le test au nitroprussiate, indiqué par Morner (56) pour la caractérisation de la cystéine, observe que cette réaction colorée est donnée par certains tissus animaux. Heffter (33) en 1908 vérifie ce fait et emploie cette réaction pour montrer la présence du groupement sulphydrylé libre dans les tissus. Pour lui ce groupement fait partie d'un noyau cystéine, d'acide thioglycolique et d'acide thiolactique ; d'ailleurs il prouve expérimentalement la formation d'hydrogène sulfuré par action de ces deux acides sur le soufre suivant la réaction :



Enfin il suppose une affinité du groupement (— SH) pour l'oxygène in vivo, comme in vitro pour le soufre, suivant les deux lois réversibles :



Après de Rey-Pailhade, Heffter vient donc de faire un grand pas dans l'étude de l'oxydo-réduction et ses hypothèses sont encore admises aujourd'hui, les détails ajoutés n'étant utiles que pour expliquer le mécanisme intime de ces réactions.

De Rey-Pailhade continue d'ailleurs ses investigations sur le philothion. Il effectue en 1905 (89 et 90) sur l'albumen de poule des travaux qui l'amènent à préciser les différences existant, au point de vue philothion, entre l'ovalbumine et les albumines « philothioniques » des tissus. Notamment il revient sur l'une de ses affirmations et trouve à l'albumine coagulée à 100° le pouvoir de former de l'hydrogène sulfuré avec le soufre. Il appelle « pseudo-philothion » (91) le composant du coagulum ayant cette action et le rapproche de la myo-albumine (préparée par lavage du muscle à l'eau jusqu'à ce que celui-ci ne présente plus de coloration rouge et coagulation à la chaleur de la solution ainsi obtenue) ; la solution aqueuse du muscle contient du philothion qui est transformé dans le coagulum en pseudo-philothion. Au congrès de Physiologie de Heidelberg en 1907, de Rey-Pailhade (93 et 94) suppose que l'oxygène produit par scindement de l'eau par les oxydases transforme l'albumine « philothionique » en albumine ordinaire et au contraire l'hydrogène libéré dans le même phénomène retransforme l'albumine ordinaire en albumine « philothionique ». En 1908 (95) le même auteur admet que l'hydrogène labile du philothion appartient à une fonction mercaptan. D'autre part (92) se basant sur les températures minima de combinaison de l'hydrogène avec le soufre (la combinaison se fait à 250°) et avec l'oxygène (la formation de H₂O ne se produit qu'à 350°) de Rey-Pailhade pense que l'hydrogène « philothionique » s'unit plus facilement au soufre qu'à l'oxygène.

Enfin en 1915, le même auteur (96) découvre le philothion dans le cristallin des yeux.

Contrairement aux apparences, ces deux auteurs, de Rey-Pailhade et Heffter, malgré une divergence sur les effets du chauffage à 100°, sont entièrement d'accord. Le premier découvre un corps protéidique possédant un atome d'hydrogène labile, le second précise que cet hydrogène appartient à une fonction sulfhydryle faisant elle-même partie d'un radical cystéine et d'autres corps « thio ». Les termes de diastase et de non diastase ne sont que des mots, des conclusions semblables sont données aux mêmes faits constatés ; la seule différence est effacée d'ailleurs par de Rey-Pailhade qui, avec son « pseudo-philothion » admet que le philothion détruit par la chaleur

donne un produit de dédoublement capable lui aussi d'hydrogéner le soufre.

Strassner (109) vient apporter en 1910 sa contribution à ces études sur « les effets réducteurs des tissus » : il utilise surtout comme test la décoloration du bleu de méthylène et ne fait que quelques essais qualitatifs avec le soufre. Ses expériences lui permettent de conclure :

- 1°) L'action du groupement ($-SH$) dans le phénomène ;
- 2°) L'accélération du processus par des catalyseurs ;
- 3°) La diminution partielle par le chauffage ou l'acide cyanhydrique.

Dans la décoloration du bleu de méthylène par le foie l'auteur trouve, en ajoutant de l'acide thioglycolique, des résultats supérieurs à ceux obtenus avec l'acide seul ou le tissu seul. Ce fait, attribué à un phénomène catalytique, est dû probablement, selon la théorie réversible de Heffter, à une réduction par le tissu du disulfure formé dans l'oxydation de l'acide thioglycolique.

Enfin Thunberg (113 et 114), supprimant les dérivés sulfhydrylés, découvre que les tissus possèdent encore un pouvoir réducteur capable de déshydrogéner l'acide succinique pour décolorer le bleu de méthylène, il attribue cette action à une diastase, la déshydrogénase. Dans une étude remarquable, il assigne à chaque intermédiaire de désassimilation, possédant des atomes d'hydrogène labiles, une diastase spéciale ; mais il constate également que la « succinodéshydrogénase » n'a pas le pouvoir d'hydrogéner le soufre.

CHAPITRE II

MISE AU POINT ACTUELLE DE LA QUESTION

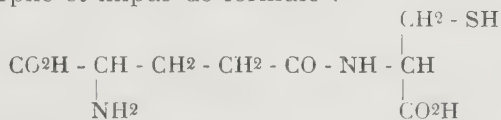
A — Le Glutathion

DIPEPTIDE

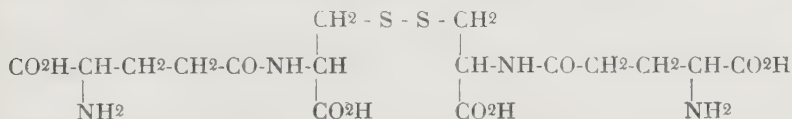
Nous avons vu l'existence, dans les tissus, de dérivés sulphydrylés d'abord soupçonnée, puis démontrée, leur rôle supposé dans les phénomènes d'oxydo-réduction. Il restait à les isoler pour connaître leur nature exacte ; Hopkins (35) en 1921 réussit à extraire des tissus animaux et de la levure de bière un dipeptide formé de l'union d'une molécule d'acide glutamique et de cystéine qu'il appelle « *glutathion* ».

Il obtient ce corps en traitant la levure de bière à chaud par l'eau acidulée par l'acide acétique. Après des défécations successives de la solution par l'acétate neutre de plomb, le sulfate acide de mercure, et l'acide phosphotungstique, le dipeptide est isolé à l'état de sel de cuivre, transformé totalement à l'état oxydé puis à l'état réduit, purifié par plusieurs dissolutions dans l'eau après précipitation par l'alcool absolu, et enfin précipité par l'éther.

Ce corps amorphe et impur de formule :



s'oxyde très facilement en donnant la diglutamylcystéine :



Le glutathion-dipeptide est une poudre blanche hygroscopique douée d'un pouvoir rotatoire lévogyre : $[\alpha]_D = -98^\circ 3$.

Il donne la réaction au nitroprussiate et possède la propriété de donner avec le soufre de l'hydrogène sulfuré. Hopkins observe en outre que le « système glutathion réduit - glutathion oxydé » a une facilité de transformation plus grande dans les deux sens (oxydation et réduction) que le « système cystéine-cystine ».

Stewart et Tunnicliffe (108) font la synthèse de la diglutamylcystéine, ils obtiennent un composé présentant les mêmes propriétés que le dipeptide préparé par Hopkins et confirment la constitution indiquée par cet auteur.

TRIPEPTIDE

Brand et Standberg (16) d'abord, puis Hunter et Eagles (41) en

partant soit du foie ou du sang de mammifère, soit de la levure de bière, préparent un produit contenant un pourcentage de soufre inférieur à celui que la théorie fait prévoir. Hunter et Eagles, après avoir constaté sur un matériel d'extraction différent la similitude du composé obtenu, émettent l'hypothèse que celui-ci ne serait pas un di- mais un tripeptide. Hopkins (36) attribue le fait observé à une perte de soufre imputable aux alcalis employés.

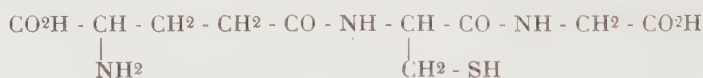
Johnson et Voetglin (42) préparent, eux aussi, un glutathion ne répondant pas à la formule théorique, ils arrangent leur méthode d'extraction de façon à obtenir le dipeptide. Benedict et Newton (42) mettent en doute la formule dipeptidique. Enfin Hopkins (37, en 1929) modifie sa technique d'extraction et obtient un tripeptide formé non seulement de cystéine et d'acide glutamique, mais encore de glycine.

Tout récemment d'ailleurs M. T. Régner (77 et 78) vient confirmer cette formule après avoir préparé par une méthode personnelle 1,50 g. de tripeptide à partir d'un kilogramme de levure fraîche. L'originalité de sa méthode réside surtout dans le liquide d'extraction qui est l'alcool ; une seule défécation à l'acétate neutre de plomb est suffisante et l'excès de métal est éliminé non à l'hydrogène sulfuré, mais à l'acide sulfurique demi-normal : l'oxyde cuivreux, au lieu de sulfate de cuivre généralement employé permet d'obtenir avec un rendement suffisant un sel cuivreux qui, décomposé par l'hydrogène sulfuré, met en liberté le glutathion réduit qui reste en solution et que l'on fait cristalliser.

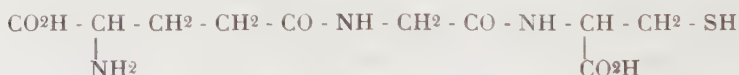
Le composé obtenu présente des propriétés analogues au premier dipeptide jamais obtenu à l'état cristallisé. D'après M. T. Régner son point de fusion est de 190° et son pouvoir rotatoire de $[\alpha]_D = -18.3 \pm 0.3$. L'analyse élémentaire répond bien à son poids moléculaire de 307.

La nature tripeptidique du composé, confirmé par Harris (32) peu après la découverte d'Hopkins en 1929, pouvait faire présager un grand nombre de formules.

Pirie et Pinhey (61) se basant sur le pH des acides aminés et du glutathion lui-même, considèrent comme plus probable les formules correspondant à la glutamyl-cystéinyl-glycine.



ou la glutamyl-glycyl-cystéine :



Cette hypothèse est confirmée par Kendall, Mac Kenzie et Mason (44) et par Quastel, Stewart et Tunnicliffe (63) enfin Nicolet (57) en 1930 établit que le glutathion est la glutamyl-cystéinyl-glycine, fait confirmé peu après par Kendall, Mason et Mac Kenzie (45).

B — Généralités sur le pouvoir Oxydo-Réducteur des dérivés sulfhydrylés

Dès 1909, Mathews et Walker (52) montrent que la cystéine est capable d'absorber l'oxygène, et font varier les conditions expérimentales, réaction du milieu, traces de métaux. La décoloration du bleu de méthylène par l'acide thioglycolique obtenue par Strassner (109) en 1910 a déjà été notée plus haut, mais c'est surtout depuis la découverte du glutathion que se sont multipliés les travaux sur ces phénomènes : dès 1921 Hopkins (35) observe le pouvoir réducteur de son dipeptide sur le bleu de méthylène, le soufre, et étudie, un peu plus tard (38), son rôle dans l'oxydation des corps gras.

Nous n'avons pas la prétention de faire sur cette question un exposé complet qui dépasserait trop par sa portée et son importance le sujet de ce travail. Qu'il nous soit cependant permis de citer les noms de Meyeroff (54), Hopkins (35, 38 et 39), Hopkins et Dixon (40), Tunnicliffe (117), Dixon et Tunnicliffe (23 et 24), Meldrum et Dixon (53), Abderhalden et Wertheimer (1), Wieland (121), Warburg et ses collaborateurs (119 et 120) ainsi que les monographies magistrales de Fabre (26), de Blanchetière, Binet et Mélon (15) et la thèse de M. T. Régnier (78).

Le mécanisme de l'oxydation et la réduction des dérivés sulfhydrylés peut présenter, pour nous, un certain intérêt, aussi est-il utile de synthétiser ici les hypothèses auxquelles ces auteurs ont abouti.

MÉCANISME

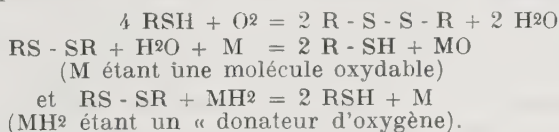
Ces diverses théories peuvent être classées en deux groupes suivant leur point de départ :

1°) L'activation de l'hydrogène peut se faire en présence ou en l'absence d'oxygène ;

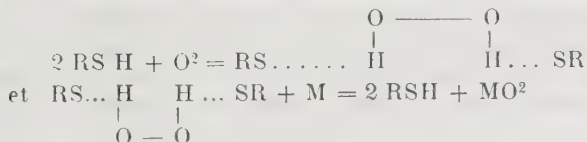
2°) La présence de l'oxygène est nécessaire à cette activation.

1°) Activation de l'hydrogène avec ou sans oxygène.

A) D'après Hopkins (39) reprenant la théorie de Wieland (121) les équations exprimant ce mécanisme sont les suivantes :



B) Au lieu de la formation d'eau, Meyeroff (54) admet celle d'un peroxyde qui intervient ensuite pour oxyder la molécule.



C) Enfin Thurlow (445), reprenant la théorie de Heffter (33), intercale l'eau oxygénée à la place de l'eau ou du peroxyde, en anaérobiose :



et en aérobiose



2°) Activation de l'hydrogène par l'oxygène.

Kendall et Nord (46) ne peuvent réduire le carmin d'indigo par la cystéine ou le glutathion réduit qu'en présence de traces d'oxygène, ils supposent la formation d'un peroxyde nécessaire même dans le cas de la réduction.

Dixon et Tunnicliffe (24) réfutent cette théorie et obtiennent la réduction sans passer par la formation du peroxyde.

RELATION ENTRE LE POUVOIR OXYDO-RÉDUCTEUR DES TISSUS ET LES DÉRIVÉS SULFHYDRYLES

Une tendance générale a voulu depuis 1921 attribuer au glutathion les propriétés oxydo-réductrices des tissus ; mais, « il a bien fallu reconnaître », disent Fabre et Simonnet (27) en 1930, « que cette solution n'est que partielle » et une dernière preuve, entre tant d'autres, vient d'en être donnée par E. Aubel, Y. Khouvine et G. Arragon (11) montrant que la réduction de l'acide pyruvique en acide lactique par le foie se produit en l'absence de dérivés sulfhydrylés.

De plus les dosages de glutathion effectués en clinique ont donné souvent des chiffres presque normaux dans des cas pathologiques pour lesquels le métabolisme est très certainement augmenté ou diminué. Il est surprenant, en particulier, de ne voir chez les malades consommant beaucoup d'oxygène comme les tuberculeux, aucune variation notable dans la quantité de glutathion. (P. Delore (20 et 21), Ferreira de Méra Fils (31), Ch. Achard, J. Lévy et G. Guthmann (9). Le premier de ces auteurs peut tout au plus observer une légère diminution dans la tuberculose bovine, diminution coïncidant avec celle observée dans certains cas par Ch. Achard, J. Lévy et G. Guthmann (89) et attribuée par ces derniers à l'amaigrissement. Cet exemple montre une augmentation de la consommation en oxygène non expliquée par une augmentation des dérivés sulfhydrylés.

Dans une maladie à métabolisme considérablement abaissé au contraire, l'avitaminose B, L. Randoïn et R. Fabre (64, 65 et 66) trouvent une diminution marquée de ce composé dans les muscles de pigeons carencés en facteur B, mais sont amenés à déclarer que cette constatation ne peut expliquer les phénomènes à elle seule de

non-utilisation des glucides et reconnaissent la nécessité de rechercher dans ce cas les variations du pouvoir oxydo-réducteur. Cette considération nous a amené à entreprendre ce travail dont elle constituera l'application physiologique. Sans insister davantage sur l'avitaminose B, ce que nous ferons plus loin, qu'il nous soit permis d'en tirer un argument de plus pour montrer l'impossibilité de doser le pouvoir oxydatif d'un tissu par détermination de sa teneur en glutathion.

Ce qui semble intéressant en effet est de connaître la quantité d'oxygène que le tissu est capable d'utiliser pour ses oxydations. A l'oxygène employé par quelques auteurs, on a préféré le plus souvent d'autres accepteurs d'hydrogène : le bleu de méthylène, le m. dinitrophénol (Lipchitz) (49), la détermination de RH^2 (Wurmser) (123), enfin Fabre et Simonnet (27, 28 et 29) par perfusion, employèrent la réduction de la cystine concurremment à celle du bleu de méthylène.

La réduction du soufre, étudiée autrefois, ne donne lieu après les expériences de Thunberg à aucune recherche physiologique jusqu'en 1930. A cette date E. Sluiter (106, étudie cette propriété des tissus en la comparant à leur teneur en glutathion et en tire plusieurs conclusions sur la quantité d'hydrogène sulfuré formé dans diverses conditions et sur l'origine de cette activité tissulaire.

C — Production d'hydrogène sulfuré par les tissus

(ANALYSE DU TRAVAIL DE E. SLUITER)

Questions posées.

E. Sluiter se propose de rechercher les sources d'hydrogène intervenant dans la réduction du soufre par les tissus et notamment parmi celles-ci le rôle des groupements ($-SH$) et celui des diastases. Pour cela son travail a pour but de déterminer :

1°) S'il y a une relation entre la teneur d'un tissu en dérivés sulfhydrylés et l'importance de l'hydrogénation du soufre par celui-ci.

2°) L'influence de la température et du pH dans le processus.

3°) Le rôle des donateurs d'hydrogène.

4°) Celui des déshydrogénases.

MÉTHODE EMPLOYÉE POUR LE DOSAGE.

La technique de dosage, imaginée par l'auteur, est basée sur la formation du bleu de méthylène par action de l'hydrogène sulfuré sur le sulfate de diméthyl-p. phénylène-diamine en milieu acidifié par l'acide chlorhydrique en présence de perchlorure de fer. La solution de bleu de méthylène ainsi obtenue est comparée à des solutions étalons non par colorimétrie, mais par « extinctométrie ». Un appa-

reil construit par l'auteur permet, l'épaisseur du liquide étant constante, de faire varier au moyen d'un rhéostat l'intensité lumineuse fournie par une source électrique.

Les tissus pulpés finement (l'état de division de cette pulpe a une grosse importance) sont mis en contact dans des récipients fermés avec une solution de soufre colloïdal en présence de toluène. Le vide est fait (1) et les récipients laissés au thermostat pendant deux heures. Après acidification l'hydrogène sulfuré est entraîné par un courant d'air dans une solution de soude décimale. La solution est acidifiée par l'acide chlorhydrique et additionnée ensuite d'une solution de sulfate de diméthyl-p. phénylène-diamine et de perchlorure de fer. La formation de bleu de méthylène est appréciée ensuite quantitativement comme il a été exposé.

RÉSULTATS OBTENUS PAR L'AUTEUR.

Au moyen de cette méthode l'auteur obtient des résultats que nous groupons en dix paragraphes :

1°) Le pouvoir réducteur du tissu sur le soufre est plus intense que celui d'une solution pure équivalente de glutathion.

2°) Pour la même teneur en groupement ($-SH$) les organes des petits animaux produisent plus d'hydrogène sulfuré que les organes correspondants des gros animaux.

3°) Non seulement il n'y a aucune relation entre l'importance du dégagement gazeux et la teneur en glutathion estimée par la méthode de Tunnicliffe (118) mais encore le phénomène est influencé par la quantité de tissu ou de solution pure de glutathion. Ainsi pour 0,50 g. de foie contenant 1,16 mg. de glutathion, la quantité d'hydrogène sulfuré produite est de 0 mg.

Pour 1 g. du même foie contenant 2,32 mg. de glutathion, la quantité d'hydrogène sulfuré produite est de 0,46 mg.

Pour 2 g. du même foie contenant 4,64 mg. de glutathion, la quantité d'hydrogène sulfuré produite est de 1,73 mg. et il en est de même pour les solutions pures de glutathion.

4°) Durée du dégagement : très intense pendant la première demi-heure, le dégagement diminue ensuite d'importance pour devenir presque nul après deux heures.

5°) L'anesthésie ne diminue pas notablement le pouvoir réducteur des tissus de l'animal endormi.

6°) Le vieillissement des organes atteint très nettement ce pouvoir qui devient nul pour les dosages effectués trois jours après la mort.

7°) Le chauffage : les tissus non additionnés de soufre produisent de l'hydrogène sulfuré par le chauffage à 70° ; ce phénomène est

(1) L'auteur ne dit textuellement que ceci : « bottles which were evacuated »; nous avons traduit « bouteilles qui sont vidées », aucune précision n'est donnée sur le vide obtenu, la façon de le faire, la forme des récipients, etc...

accompagné par une diminution dans la teneur en dérivés sulfhydrylés. A 100° en l'absence de soufre, aucun dégagement ne peut être observé bien qu'il y ait aussi dans ce cas une destruction de glutathion. Enfin à 100° en présence de soufre la production d'hydrogène sulfuré, plus intense qu'à 40°, n'excède pas quelques minutes.

8°) La réaction du milieu influe sur le dégagement ; nul au-dessous de pH 4, il augmente jusqu'à pH 7,8.

9°) L'addition d'un « donateur d'hydrogène » (tartrate, malate, succinate et surtout citrate de potassium en solution N/10) au foie mis en contact avec le soufre, provoque une augmentation de l'hydrogène sulfuré.

10°) Une solution de déshydrogénase préparée par la méthode d'Ohlson (59), donne de l'hydrogène sulfuré avec le soufre, mais ajouté à un tissu, elle n'augmente pas le pouvoir réducteur de celui-ci.

CONCLUSIONS.

L'auteur attribue les différences obtenues entre les tissus et les solutions pures de glutathion à une action catalytique et non diastasique « puisque, dit-elle, la production d'hydrogène sulfuré peut se faire dans des circonstances dans lesquelles les diastases sont inactives et puisque les solutions diastasiques ne produisent pas plus d'hydrogène sulfuré que le tissu ne contient de (-SH), je crois pouvoir conclure que la production d'hydrogène sulfuré dans le tissu vivant après addition de soufre n'est pas due à une activité diastasique ». Enfin dans cette conclusion, l'auteur pense que le phénomène peut être attribué à la réaction purement chimique :



CRITIQUE DU TRAVAIL DE E. SLUITER

Ce travail, remarquable par la précision des expériences, ne peut prêter à aucune critique sur les résultats obtenus, apparemment au moins. Cependant, il nous a paru difficile d'admettre certains faits notés par l'auteur, notamment la non-proportionnalité entre la quantité de tissu employée et l'importance du dégagement d'hydrogène sulfuré. C'est pourquoi nous nous sommes permis d'examiner en détail la méthode, les résultats et les conclusions.

1°) LA MÉTHODE. — *Le dosage de l'hydrogène sulfuré* ingénieusement imaginé par l'auteur, nécessite un appareil électrique compliqué et d'un emploi délicat. Les méthodes colorimétriques présentent sur les méthodes volumétriques l'inconvénient d'une moins grande précision. Un dosage à l'iode centinormal donnerait, nous semble-t-il, des résultats plus exacts ; d'ailleurs, l'auteur étalonne son appareil au moyen de solutions d'hydrogène sulfuré titrées de cette façon.

D'autre part, le *soufre colloïdal* présente l'avantage de la plus grande division possible, mais, contenant toujours, entre autres, des

tétrathionates et des hyposulfites, il est loin d'avoir celui de la pureté.

L'addition du *toluène*, dans tous les essais effectués par l'auteur, ne permet pas d'examiner quel serait le dégagement en l'absence de ce liquide, or Heffter a noté une inhibition du phénomène par addition d'antiseptiques.

Enfin l'auteur n'étudie pas les *différentes quantités de soufre* nécessaires dans les différentes conditions d'*hydratation*, l'influence des *petites variations de température*, éléments qui, à notre avis, sont susceptibles d'influer d'une façon notable sur le phénomène.

2°) LES RÉSULTATS. — La quantité minimum de dérivés sulfhydrylés trouvés par E. Sluiter nécessaire à un dégagement d'hydrogène sulfuré nous a paru anormale. Et de fait, le mélange de 0,10 g. de pulpe de foie à autant de soufre nous a permis de vérifier, avec le papier au sous-acétate de plomb, une production d'hydrogène sulfuré à la température ordinaire; l'auteur trouve presque toujours une production nulle pour les quantités de pulpe de foie inférieures à 0,50 g. De même, nous l'avons fait remarquer, la non-proportionnalité entre des quantités différentes d'un même tissu et celles d'hydrogène sulfuré dégagé nous a paru surprenante.

3°) CONCLUSIONS. — L'auteur laisse de côté la réduction du disulfure formé dans la réaction (se reporter à l'équation chimique); pourtant cette réduction du disulfure en thiodérivé par le tissu, prouvée par de nombreux auteurs, est démontrée par Hopkins 35 lui-même dans son premier mémoire sur le glutathion. Il faut probablement attribuer à ce fait l'hydrogénation intense du soufre par les tissus, les dérivés sulfhydrylés régénérés ainsi agissant de nouveau sur le soufre.

Quant au rôle des diastases, les expériences de E. Sluiter lui permettent d'émettre une hypothèse mais non une affirmation. La déshydrogénase d'Ohlson peut fort bien n'avoir aucune action, ce n'est peut-être pas le cas pour d'autres diastases; d'ailleurs, Thunberg (114) a montré combien ces ferments sont sélectifs, sa « succinodéshydrogénase », par exemple, ne déshydrogène que l'acide succinique. L'autre argument, non-destruction de l'activité par la chaleur, élimine bien une action diastasique totale, mais non partielle, qui serait peut-être inhibée par le toluène et aurait pu, de ce fait, passer inaperçue de l'auteur. La décomposition du glutathion lui-même dans le tissu chauffé, remarquée par l'auteur, doit considérablement gêner l'observation du phénomène.

En résumé, le travail de E. Sluiter apporte une contribution très utile à l'étude de cette propriété hydrogénante des tissus vis-à-vis du soufre, mais il s'en faut que tous les aspects du phénomène aient été examinés, toutes les questions posées résolues définitivement.

Dans ce travail, nous nous sommes proposés d'apporter notre part

à cette recherche afin d'établir une méthode d'appréciation du pouvoir réducteur des tissus.

D — Glutathion et Philothion

Dès sa première découverte, Hopkins crut à la similitude de son composé et du philothion de de Rey-Pailhade. Celui-ci (97 et 98) en 1922-1923, fait remarquer les différences existant entre ces deux composés qui ont bien tous deux la propriété d'hydrogèner le soufre pour donner de l'hydrogène sulfuré ; mais le dipeptide agit sur le nitroprussiate pour donner une réaction colorée, au contraire le philothion de l'albumen de l'œuf, identique d'après de Rey-Pailhade (90) et Heffter (33) à l'ovalbumine, n'agit que sur le soufre. Ceci est attribué par l'auteur à la grosseur de molécule du philothion inaccessible à la molécule du nitroprussiate, accessible au contraire à la petite molécule du soufre. Sörensein et Hansen (107) observent le même fait et remarquent en outre que le coagulum de l'albumen de l'œuf de poule obtenu soit par l'eau bouillante, soit par les acides dilués, agit sur le nitroprussiate ; par ce traitement, pensent-ils, le philothion donne naissance à un produit de dédoublement semblable au dipeptide d'Hopkins.

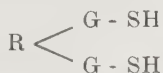
En présence de ces faits, de Rey-Pailhade (99) distingue :

1°) Un philothion α , identique à l'ovalbumine, n'agissant que sur le soufre.

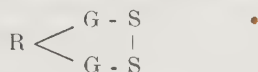
2°) Un philothion β , existant dans les tissus animaux, agissant sur le soufre et le nitroprussiate.

D'après cet auteur et d'après Sörensein et Hansen le sérum sanguin ne contient aucun de ces deux corps et donne par hydrolyse non de la cystéine, mais de la cystine.

Enfin en 1928, de Rey-Pailhade (100 et 101) pense que le glutathion n'est « qu'une chaîne attachée au grand édifice du philothion », auquel il donne la formule schématique :



dans laquelle G - SH représente le glutathion. Par action du soufre ou de l'oxygène les chaînes se ferment en donnant un nouveau corps :



La découverte d'un di- puis d'un tripeptide semble être un argument en faveur de cette hypothèse surtout si on considère que, dans le glutathion, formule 1929, la molécule de glycolle se trouve à une extrémité de la chaîne.

Un autre argument est la difficile solubilisation du glutathion des tissus animaux, à moins de traumatisme des cellules par les agents

toxiques. Ce fait remarqué par Fabre et Simonnet (27, 28 et 29) au cours de leurs travaux sur le pouvoir oxydo-réducteur des tissus, les a amenés à conclure que « les dérivés sulfhydrylés existent dans les différents organes sous une forme potentielle, difficilement mobilisable ».

D'autre part les mêmes auteurs constatent que, même après de nombreux traitements à l'acide trichloracétique, les tissus donnent la réaction au nitroprussiate et réduisent le bleu de méthylène et la cystine.

Il semble donc que les dérivés sulfhydrylés existent dans les tissus sous les deux formes : soluble, le glutathion, insoluble, le philothion. Le glutathion proviendrait du clivage du philothion, qui lui-même serait une protéine de synthèse. Ces deux corps ont tous deux la propriété de réduire le soufre pour donner de l'hydrogène sulfuré, dont le dosage sera un moyen d'évaluer la teneur des tissus non seulement en glutathion sous sa forme soluble, mais encore en philothion, c'est-à-dire en glutathion sous sa forme « potentielle », insoluble.

CHAPITRE III

DOSAGE D'UNE SOLUTION ALCALINE DE SULFURE PAR LA SOLUTION CENTINORMALE D'IODE

Raisons du choix d'une méthode à l'iode

L'action hydrogénante des tissus vis à vis du soufre se traduit par la production d'une quantité d'hydrogène sulfuré variant, d'après E. Sluiter de 0 à 1 mg. et dépassant rarement ce maximum pour atteindre jusqu'à 2 mg. pour des quantités de tissus allant jusqu'à 2 g. de tissu riche en dérivés sulphydrylés (foie par exemple) et des quantités plus importantes pour des tissus pauvres en ce composé (muscle).

Les organes peu volumineux des petits animaux, employés ultérieurement par nous-mêmes, nous obligent à utiliser une petite quantité de tissu, tandis qu'il nous est toujours possible de réduire la prise d'essai d'organes plus volumineux des gros animaux. La méthode de dosage la plus utile est donc celle qui donnera un résultat exact avec des quantités infimes d'hydrogène sulfuré et en tout cas bien inférieures à 1 mg.

D'autre part la quantité de soude décinormale — 10 cm³ — employée par le même auteur pour absorber l'hydrogène sulfuré nous a paru suffisante. En présence d'un excès de soude la réaction :



indique l'emploi d'un volume de liqueur alcaline plus de dix fois supérieur à celui nécessaire (10 cm³ de soude décinormale peuvent absorber théoriquement 17 mg. d'hydrogène sulfuré).

Les résultats obtenus au cours d'essais exposés plus loin (chap. IV) prouvent que ces 10 cm³ sont suffisants pour absorber dans le vide jusqu'à 0,7 mg. d'acide sulphydryque en un temps relativement court.

Le problème du dosage d'hydrogène sulfuré peut donc être posé de la façon suivante :

« Dosage du sulfure de sodium à des doses variant de 0 à 5,20 mg. en solution alcaline ».

Les dosages pondéraux sont inapplicables pour de si faibles doses et les inconvénients de la méthode colorimétrique de E. Sluiter nous incitent à ne pas l'employer. Le dosage volumétrique à l'iode centinormal nous paraît le plus simple parce qu'il présente l'avantage d'une technique connue. Son application nécessite une légère mise au point à cause des faibles quantités employées et de la réaction relativement très alcaline de la solution.

Action de l'iode sur les sulfures alcalins

La facilité de cette mise au point est, nous devons l'avouer, une

autre raison de ce choix. Les propriétés oxydantes de l'iode sur les sulfures sont en effet des notions connues et classiques et nous nous excusons de les rappeler ici pour la clarté de cet exposé.

Cette action de l'iode sur les sulfures doit être considérée suivant la réaction du milieu :

1°) *En milieu acide*, les monosulfures alcalins sont d'abord décomposés par l'acide pour donner de l'acide sulfhydrique qui, au fur et à mesure de sa formation réagit sur l'iode suivant l'équation :



2°) *En milieu neutre*, l'iode agit de la même façon et la formation d'acide iodhydrique est remplacée par celle d'un iodure :



Les dosages à l'iode sont aujourd'hui considérés comme de véritables oxydations, l'eau intervenant dans le cycle de la réaction :



pour l'acide sulfhydrique :



pour les monosulfures :



et l'acide sulfhydrique produit est oxydé comme en (4).

Il est facile de concevoir alors la réaction des sulhydrates alcalins ou disulfures, donnant à la fois de l'acide iodhydrique et un iodure :



Quant aux polysulfures, il ne peut en être question dans notre réaction, l'excès de soude étant beaucoup plus grand que ne l'exigerait l'absorption exacte de l'acide sulfhydrique et le dosage étant effectué immédiatement après, ce qui élimine toute altération de la solution de monosulfure.

3°) *En milieu alcalin* : l'oxydation d'un sulfure par l'iode aboutit à une oxydation plus complète et, si le milieu est suffisamment alcalin, il ne se forme même pas de soufre colloïdal. C'est pourquoi Deniges (22) recommande pour le dosage des sulfures des eaux une technique indiquée par Dupasquier en 1841, consistant à ajouter un peu de solution de chlorure de baryum qui précipite à l'état de carbonate de baryte insoluble les carbonates communiquant à ces eaux leur réaction alcaline. Ces principes ont permis l'établissement de deux grandes méthodes : directe et indirecte.

A — MÉTHODE DIRECTE

La plus récente description de la méthode directe découverte par Dupasquier dès 1841 peut être trouvée dans le traité de chimie analytique de Deniges (22) pour le dosage des eaux sulfureuses.

Pour l'hydrogène sulfuré la solution d'iode décimale est versée à la burette, jusqu'à coloration bleue de l'empois d'amidon, dans

la solution sulfureuse qui ne doit pas contenir plus de 50 cg. d'hydrogène sulfuré par litre et ne pas consommer plus de 3 cm³ d'iode normaldécime pour 10 cm³.

Les mono et polysulfures alcalins et alcalino-terreux réagissent comme l'hydrogène sulfuré mais plus énergiquement à cause de l'affinité de l'iode pour le métal combiné au soufre. Le même mode opératoire est employé. Deniges donne, pour faire les calculs, les équations déjà indiquées.

B — MÉTHODE INDIRECTE

Treadwell (116) préfère employer une quantité connue de solution iodée dont l'excès est ensuite déterminé par une solution d'hypo-sulfite de sodium de même titre. Dans les réactions données par cet auteur :



la solution iodo-iodurée est considérée comme une solution d'iodure de potassium d'après la théorie des ions, les ions I³ étant négatifs et les ions H⁺ positifs.

Pratiquement une quantité déterminée de solution de sulfure est versée en agitant constamment dans un excès de solution iodée acidulée par l'acide chlorhydrique pur et fortement diluée avec de l'eau. L'excès d'iode est titré par une solution décinormale d'hypo-sulfite.

Dans cette technique le sulfure est dosé à l'état d'hydrogène sulfuré puisque, au fur et à mesure de son arrivée dans la solution il est décomposé par l'acide chlorhydrique. L'addition d'une grande quantité d'eau a pour but, si la concentration en sulfure est trop grande, d'éviter l'adsorption d'une partie de l'iode par les micelles de soufre colloïdal qui sont alors très grosses. Brunck (17) évite cet inconvénient en utilisant une solution d'iode centinormale.

Etude critique de ces méthodes

Le « Laboratoire de la Norddeutschen Chemischen Fabrik » de Harburg fait en 1923 (58) une étude comparative des différentes méthodes connues :

1°) *Méthode de Lunge-Berl* (50), c'est une titration directe mais en milieu acide.

2°) *Méthode de Treadwell*.

3°) *Méthode directe*, comme celle décrite plus haut.

4°) *Méthode indirecte*, sans addition d'acide.

Ce travail conclut de la façon suivante : les deux méthodes (3°) et (4°) ne peuvent convenir en milieu alcalin même faiblement, par des carbonates par exemple (aucune indication n'est donnée sur le pH des différentes solutions). Les deux autres techniques ne pré-

sentent pas cet inconvénient mais celle de Treadwell est préférable. L'autre (Lunge-Berl) donnant souvent une erreur par défaut : dans cette dernière, d'après E. Berl et T. Pfaummüller (43), l'acide sulfhydrique déplacé par l'acide, est dissous dans le liquide et l'erreur se produirait quand la teneur de la solution en sulfure alcalin est trop grande. Nous avons considéré comme possible l'emploi de la méthode directe en milieu neutre à condition de saturer l'excès de soude par un acide ne déplaçant pas l'acide sulfhydrique. Or même l'acide carbonique qui, par barbotage dans la soude, donne une solution de bicarbonate saturée de CO_2 de pH 6.6 à 6.8, déplace l'hydrogène sulfuré des sulfures, fait démontré par Strömeyer (49) et facilement contrôlable : en effet si on place un papier au sous-acétate de plomb au-dessus d'un flacon débouché de monosulfure de sodium, le papier est rapidement noirci par l'hydrogène sulfuré déplacé par la petite quantité de CO_2 atmosphérique.

L'impossibilité d'obtenir une solution neutre sans déplacer l'hydrogène sulfuré et l'éventualité de son départ de la solution nous font renoncer aux méthodes directes malgré leur avantage de ne pas nécessiter le transvasement obligatoire dans un dosage par retour. Il ne peut être question de pratiquer celui-ci sans addition d'acide, force nous est donc d'avoir recours à la méthode de Treadwell.

Essais de la méthode de Treadwell

Nous devons tenir compte, dans son application au but de ce travail, des conditions particulières formulées plus haut : la faible quantité de sulfure nécessite l'emploi de la solution centinormale d'iode, ce qui ne présente, semble-t-il, aucune difficulté, mais l'alcalinité de la solution nous oblige à déterminer l'acidité nécessaire.

Le *mode opératoire* employé est celui même indiqué par Treadwell. La solution alcaline de sulfure est versée dans une certaine quantité de solution iodée, acidifiée au préalable. Le récipient ayant contenu la solution à doser (nous verrons plus loin que l'absorption d'hydrogène sulfuré se fait dans un barboteur de Vigreux ou le plus souvent dans un cristalliseur) est rincé plusieurs fois avec de l'eau distillée et les eaux de lavage versées dans la solution iodée acide. L'excès d'iode est titré ensuite par une solution centinormale d'hyposulfite de sodium en présence de réactif de Tromsdorff.

PRÉPARATION DE LA SOLUTION DE SULFURE. — H. PECKER (60) a remarqué que l'altération bien connue du monosulfure de sodium cristallisé, même en récipient hermétiquement clos, donne un mélange liquide contenant de l'hyposulfite de sodium, de la soude et même du sulfate de soude ; dans ce mélange persistent des cristaux formés uniquement de sulfure neutre et qu'il suffit de laver superficiellement à l'eau et de sécher rapidement pour avoir du sulfure SNa_2 , 9 H_2O . Nous opérons de cette façon pour obtenir des cristaux répondant à la formule théorique. Ceux-ci sont dissous dans la soude décinormale

de façon à obtenir une solution de monosulfure de sodium à 100 mg. environ de SNa^3 , 9 H_2O dans 100 cm^3 . Un nombre variable de centimètres cubes de cette solution est prélevé pour chaque dosage, toujours effectué au moins en double, et le volume est complété à 10 cm^3 avec la soude décimale. Cette solution de sulfure ne se conserve pas et doit être préparée au moment du besoin.

Les solutions titrées sont préparées suivant les techniques connues. La concentration centinormale de l'iode et de l'hyposulfite est obtenue par dilution extemporanée des solutions décimales correspondantes. Nous avons également utilisé les solutions d'iodure-iodate de meilleure conservation que les solutions d'iode.

ACIDIFICATION. — Théoriquement il eut fallu une quantité d'acide légèrement supérieure à celle de soude employée :

Si à 10 cm^3 d'iode acidifiés nous ajoutons 0,80 mg. de sulfure, consommant théoriquement 6,66 cm^3 d'iode nous trouvons :

Acidification par :	Solution de sulfure dans :	I consommé :	Erreur :
1°) ClH N/10 5 cm^3	eau 10 cm^3	6,66 cm^3	0 p. 100
2°) ClH N/10 15 cm^3	soude N/10 10 cm^3	7,10 cm^3	6 p. 100
3°) ClH N/10 20 cm^3	soude N/10 10 cm^3	6,96 cm^3	3 p. 100

Donc plus la quantité d'acide est grande et plus l'erreur est faible. Ceci peut, croyons-nous, s'expliquer de la façon suivante : l'excès d'acide étant faible, il se produit pendant un temps très court un excès d'alcali au point de tombée de la solution sulfureuse dans le liquide (iode + acide), et cet instant est suffisant pour que l'iode en cet endroit réagisse en milieu alcalin.

Nous pouvons envisager deux procédés pour éviter cette erreur : ou bien verser la solution de sulfure goutte à goutte en agitant, méthode trop incommode pour être utilisée, ou bien acidifier très largement l'iode. Nous avons adopté pour cela des solutions acides normales et nous avons acidifié les 10 cm^3 d'iode par 1, 2, 3, 4, 5, 10 et 20 cm^3 d'acide chlorhydrique ou sulfurique de ce titre (Tableau 1). Pour 1 cm^3 ou 2 cm^3 l'erreur est très grande, pour 3 ou 4 cm^3 elle devient presque négligeable, enfin pour 5,10 et 20 cm^3 nous obtenons des résultats exacts aux erreurs d'expériences près.

D'autre part pour vérifier si une acidité trop forte n'apportera pas de perturbation dans la réaction nous acidifions avec 5,10 et 20 cm^3 d'acide chlorhydrique pur (Tableau 1 bis).

Il se produit en effet une erreur négative allant en croissant à mesure que la quantité d'acide augmente. Ce fait est dû, croyons-nous, à la décomposition de l'hyposulfite par l'acide ? Cependant l'erreur est relativement faible car la solution étant versée très lentement, la plus grande partie est oxydée par l'iode avant d'être décomposée par l'acide.

Acide ajouté en cm ³		SNa ₂ , 9H ₂ O mis en mg.	cm ³ d'iode centinormal consommés	SNa ₂ , 9H ₂ O trouvé en mg.	Erreur p. 100
SO ₄ H ₂ N	1	2,30	4,10	4,92	+ 114
"	2	"	2,50	3,60	+ 74
"	5	"	2,32	2,92	+ 0,9
"	10	"	2,33	2,33	+ 1,3
ClH N	3	4,20	3,61	4,33	+ 3,1
"	4	"	3,57	4,28	+ 1,9
"	5	"	3,52	4,22	+ 0,5
"	10	"	3,52	4,22	+ 0,5
"	20	"	3,53	4,23	+ 0,7

TABLEAU 1

Dosage par la méthode de Treadwell, 10 cm³ d'iode centinormal étant additionnés de quantités croissantes d'acide normal.

Acide chlorhy- drique ajouté en cm ³	SNa ₂ , 9H ₂ O mis en mg.	cm ³ d'iode consommés	SNa ₂ , 9H ₂ O trouvé en mg.	Erreur p. 100
5	5,80	4,73	5,68	— 2,1
10	4,65	5,58	5,58	— 3,8
20	4,51	5,41	5,41	— 6,8

TABLEAU 1 bis

Acidification de 10 cm³ d'iode centinormal par des quantités croissantes d'acide chlorhydrique pur.

Ces résultats nous incitent à employer la quantité d'acide la plus faible, c'est-à-dire 5 cm³ d'acide normal.

La nature de l'acide aurait pu influencer à cause des degrés différents d'ionisation ; il n'en est rien et des essais comparatifs avec les trois acides sulfurique, chlorhydrique et acétique ont donné absolument les mêmes résultats, ce qui indique une simple question de neutralisation alcalimétrique, comme dans un dosage volumétrique ordinaire. (Tableau 2).

Description de la technique établie

Ces essais permettent de décrire une méthode utilisée ultérieurement pour tous les dosages d'hydrogène sulfuré effectués dans ce travail :

5 cm³ d'acide chlorhydrique N sont placés dans un erlenmeyer de 100 cm³ avec 2, 5 ou 10 cm³ de solution centinormale d'iode.

Acide ajouté en cm ³	SNa ₂ , 9H ₂ O mis en mg.	cm ³ d'iode consommés	SNa ₂ , 9H ₂ O trouvé en mg.	Erreur p. 100
SO ₄ H ₂ N 10	4,90	4,10	4,92	+ 0,4
" 5	"	4,10	4,92	+ 0,4
ClH N 10	"	4,08	4,90	0
" 5	"	4,10	4,92	+ 0,4
CH ₃ CO ₂ H N 10	"	4,07	4,88	— 0,3
" 5	"	4,09	4,91	+ 0,2
ClH N 5	3,45	2,86	3,43	+ 0,6
CH ₃ CO ₂ H N 5	"	2,90	3,48	+ 0,9
CH ₃ CO ₂ H N 5	4,00	3,84	4,61	+ 0,2
CH ₃ CO ₂ H N 5	5,75	4,83	5,80	+ 1

TABLEAU 2

Acidification de 10 cm³ d'iode centinormal par les acides chlorhydrique, sulfurique et acétique.

La solution alcaline de sulfure est ajoutée à ce liquide et le récipient l'ayant contenue est lavé deux fois avec environ 5 cm³ d'eau qui sont alors versés dans l'erlenmeyer. L'excès d'iode est dosé par la solution centinormale d'hyposulfite.

La quantité d'iode mise en œuvre sera :

10 cm³ pour une teneur en SNa₂, 9H₂O supérieure à 3 mg. ou en SH₂ à 0,425 mg.

5 cm³ pour une teneur en SNa₂, 9H₂O supérieure à 1,2 mg. ou en SH₂ à 0,17 mg.

2 cm³ pour les quantités inférieures.

La seule difficulté réside dans l'appréciation du virage gênée par le soufre colloïdal. C'est l'addition de réactif de Tromsdorff, par 5 ou 6 gouttes, qui permet de déterminer, à notre avis, le plus nettement la fin de la réaction.

Les calculs établis suivant les équations déjà énoncées ne présentent aucune difficulté :

$$\text{pour SH}_2 \quad X = \frac{N-n}{2} \cdot 0,34 = (N-n) \cdot 0,17 \text{ mg.}$$

$$\text{pour SNa}_2, 9\text{H}_2\text{O} \quad X = \frac{N-n}{2} \cdot 2,40 = (N-n) \cdot 1,20 \text{ mg.}$$

N représente le nombre de cm³ d'iode mis en œuvre.

n représente le nombre de cm³ d'hyposulfite consommés par l'excès d'iode.

La vérification de cette méthode (Tableau 3) indique une sensibilité suffisante : en effet à partir de 0,788 mg. de SNa₂, 9H₂O (cor-

respondant à 0,442 mg. de SH_2 l'erreur se trouve rarement supérieure à 1 p. 100.

cm ³ d'iode employés	SNa_2 , $9\text{H}_2\text{O}$ mis en mg.	cm ³ d'iode consommés	SNa_2 , $9\text{H}_2\text{O}$ trouvé en mg	Erreur p. 100
2	0,394	0,34	0,408	+ 3,5
2	0,788	0,66	0,792	— 0,5
2	1,182	0,98	1,176	— 0,5
5	0,933	0,77	0,920	— 1,4
5	1,87	1,56	1,87	0
5	2,33	1,95	2,34	+ 0,4
5	4,20	3,50	4,20	0
10	4,65	3,92	4,70	— 1
10	9,30	7,74	9,28	— 0,2

TABLEAU 3

Essai de sensibilité de la méthode établie pour le dosage de SH_2 .

CHAPITRE IV

DESCRIPTION DES TECHNIQUES EMPLOYEES POUR ABSORBER L'HYDROGENE SULFURE PRODUIT PAR ACTION DU SOUFRE SUR LES TISSUS

Deux méthodes différentes sont employées suivant que la réaction a lieu dans le *vide* ou à la *pression atmosphérique*.

A - Absorption de SH^2 à la pression atmosphérique

AMPOULES.

Le tissu finement pulvé est délayé avec du sérum physiologique ou de l'eau et placé dans un tube à essais effilé au préalable à l'une de ses extrémités. Le soufre est alors ajouté en quantité voulue, le tube est étiré et fermé à l'autre extrémité de façon à lui donner la forme d'ampoule. Après agitation, celle-ci est placée au thermostat pendant un temps donné, à la température voulue. Nous opérons également en l'absence de liquide, le soufre est mélangé avec la pulpe et le tout est introduit le plus rapidement possible dans l'ampoule, au moyen de papier filtre.

APPAREIL ABSORBEUR.

Après le passage au thermostat, l'hydrogène sulfuré produit est absorbé au moyen d'un dispositif spécial. La pointe de l'ampoule est brisée dans un tube en caoutchouc la reliant à un appareil ainsi constitué :

1°) Un flacon à deux tubulures ayant pour but d'empêcher le passage du liquide de l'ampoule dans le premier barboteur ;

2°) Un ou deux barboteurs (1) de Vigreux contenant 10 cm³ de soude décinormale.

3°) Un autre barboteur contenant du sous-acétate de plomb et ayant pour but de constater l'absorption totale de l'hydrogène sulfuré. Ce flacon est relié à une trompe à eau aspirant lentement.

L'autre pointe de l'ampoule est également brisée de façon à permettre l'entraînement du gaz par l'air extérieur.

Pour favoriser le départ de l'hydrogène sulfuré retenu par le tissu, nous introduisons, au bout de 5 minutes de passage, 5 cm³ d'acide phosphorique au 1/8 et l'entraînement est prolongé encore 5 ou 10 minutes.

Le dosage est effectué ensuite comme il a été exposé plus haut,

(1) Un seul barboteur est suffisant à condition que l'aspiration soit très lente.

le ou les barboteurs étant rincés deux fois avec quelques cm^3 d'eau distillée.

Il est possible de doser séparément l'hydrogène sulfuré libéré dans l'atmosphère du flacon d'abord, l'hydrogène sulfuré dégagé par action de PO_4H_3 ensuite. Nous nous sommes demandé si le passage de l'air, à travers la solution alcaline de sulfure du flacon B., ne pouvait pas provoquer son oxydation, ce qui aurait occasionné une perte dans le dosage.

Cette hypothèse, qui eut faussé considérablement les résultats de E. Sluiter, est inexacte ; en effet le passage d'un courant d'air, privé ou non de son gaz carbonique, dans une solution de 0,580 mg. de sulfure de sodium dans 10 cm^3 de soude décimorale ne provoque aucune perte à condition que ce passage ne dure pas plus de 10 minutes.

B — Absorption dans le vide

Le soufre et l'oxygène étant concurremment hydrogénés par les tissus, la formation d'hydrogène sulfuré doit être plus importante en l'absence de l'air. Cette raison nous oblige, dans la plupart des cas, à effectuer la réaction dans le vide plutôt que dans l'atmosphère.

L'un des modes opératoires employés consiste à faire agir le tissu sur le soufre en ampoules scellées après avoir aspiré l'air à la trompe. Cette façon de faire, possible pour un petit nombre d'essais, présente quelques difficultés qui la rendent peu pratique pour des séries d'expériences physiologiques.

Nous nous sommes alors demandé si l'hydrogène sulfuré ne pouvait pas être absorbé quantitativement par la soude dans ces conditions.

Absorption par la soude, dans le vide, de l'hydrogène sulfuré produit par décomposition du sulfure de sodium par un acide

Pour le vérifier, une solution de monosulfure de sodium SNa^2 , 9 H_2O est décomposée dans le vide par un acide fixe et le gaz sulfhydrique produit absorbé par la soude.

Appareil employé. — Nous avons utilisé une petite cloche à vide présentant les caractéristiques suivantes :

Contenance : 1700 cm^3 .

Diamètre intérieur : 135 mm.

Hauteur intérieure : 150 mm.

A l'intérieur, deux cristallisoirs en Bohême, ayant un diamètre de 70 mm., sont placés l'un au-dessus de l'autre. Le bouchon en caoutchouc de la cloche est traversé de deux tubes : celui d'une ampoule à brome, dont l'extrémité inférieure arrive juste au-dessus du niveau du liquide contenu dans le cristallisoir supérieur, l'autre tube coudé, muni d'un robinet, peut être relié à une trompe à vide.

Mode opératoire. — 10 cm³ de soude décimale sont placés dans le cristalliseur inférieur. Le cristalliseur supérieur contient la quantité variable de sulfure à déplacer dissoute dans 5 cm³ d'eau distillée. Et enfin l'ampoule à brome renferme 5 cm³ d'acide phosphorique officinal dilué au 1/4 (ou PO₄H³ à 1/8). Le vide est fait et le robinet de l'ampoule est ouvert pour laisser passer la presque totalité de l'acide. La décomposition du sulfure est immédiate et l'hydrogène sulfuré mis en liberté est absorbé par la soude. Après un temps déterminé le sulfure ainsi formé est dosé par la méthode étudiée au chapitre III.

Acidité. — L'emploi d'un acide fixe plutôt que volatil nous a semblé indiqué pour le déplacement du sulfure : les acides phosphorique et sulfurique ont été envisagés et le premier choisi car il permet également de chasser l'hydrogène sulfuré fixé par les tissus ; l'acide sulfurique est réduit par les tissus pour donner de l'anhydride sulfureux qui, absorbé également par la soude, réagit ensuite sur l'iode et fausse ainsi le dosage.

Le titre de l'acide phosphorique a été choisi empiriquement, nous avons seulement vérifié que les dilutions de PO₄H³ à 25 ou à 12,5 p. 100 convenaient également.

Soude absorbante. — Nous avons démontré l'inconvénient, pour le dosage, d'une trop grande alcalinité nécessitant une quantité d'acide proportionnellement beaucoup plus importante : les volumes de 10 et 20 cm³ de soude décimale, essayés parallèlement nous donnent des résultats absolument identiques. L'absorption, il est vrai, dépend de la surface absorbante et, pour augmenter celle-ci, il eût fallu employer des appareils plus grands et accroître ainsi considérablement l'espace nuisible.

Temps. — La technique décrite plus haut a été utilisée en faisant varier le temps d'absorption et les quantités de sulfure (Tableau 4). Celles-ci exprimées en monosulfure de sodium SNa², 9H²O sont de 1,08 — 2,31 — 2,41 — 3,00 et 5,20 mg. La première donne pour

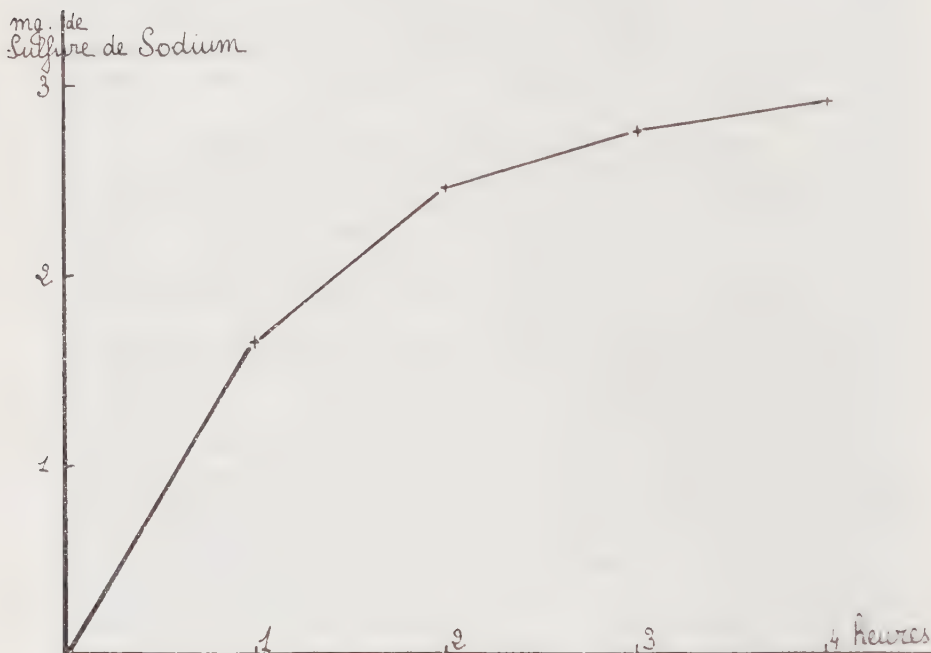
exprimé en mg. SNa ² , 9H ² O mis	mg. de SNa ² , 9H ² O formé par absorption de SH ²			
	en 1 heure	2 heures	3 heures	4 heures
1,08		0,89	0,99	1,06
2,31			2,11	2,25
2,41		2,15	2,24	
3,00	1,65	2,46	2,78	2,95
5,20	2,75	4,18		5,01

TABLEAU 4

Absorption en des temps variables de l'hydrogène sulfuré formé par décomposition du sulfure de sodium.

un temps de 4 heures une absorption de 98 p. 100, la dernière ne donne déjà plus que 96 p. 100.

Le graphique 1 correspond à 3 mg. de sulfure. Il montre une absorption de 57 p. 100 en une heure, 82 p. 100 en 2 heures, 92,6 p. 100 en 3 heures et 98 p. 100 en 4 heures.



GRAPHIQUE 1. — Absorption de SH_2 dégagé par décomposition de 5 cm³ de solution contenant 3 mg. de monosulfure de sodium.

Vide obtenu. — Le vide, toujours obtenu avec une trompe à eau, varie de 16 à 26 mm. de mercure. Les fuites provoquant des rentrées d'air même faibles abaissent considérablement la quantité dosée surtout pour des contacts prolongés. Ce fait nous a incité à étudier l'altération des solutions de sulfure de sodium faites en milieu alcalin dans les conditions mêmes de nos expériences.

Altération de la solution de sulfure. — Nous employons une solution de monosulfure de sodium contenant 3,416 mg. de $\text{SNa}_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ dans 5 cm³ de soude décimale, que nous laissons au repos pendant 24 heures soit à la pression atmosphérique, soit dans le vide. Le dosage de cette solution (Tableau 5) indique une perte très grande dans l'air, presque nulle en l'absence d'air, dans le premier cas l'élévation de la température l'augmente considérablement. D'autre part, celle-ci conservée dans le vide pendant 3 jours subit une perte insignifiante.

	Tempé- rature	Temps en heures	SNa ² , 9H ² O mis en mg.	SNa ² , 9H ² O trouvé en mg.	Perte p. 100
dans l'air..	20°	24	0,406	0,260	33,5
—	40°	24	—	0,219	55
dans le vide	20°	24	—	0,397	2,2
— —	40°	24	—	0,399	1,7
— —	20°	48	0,490	0,473	3
— —	20°	72	0,406	0,404	0,5

TABEAU 5

Altération des solutions de sulfure de sodium dans le vide et dans l'atmosphère en des temps variables.

Ces faits expliquent la remarque déjà faite sur la mauvaise conservation des solutions sulfureuses et sont en accord avec les constatations des auteurs : Kapp (43), notamment, attribue à l'oxygène de l'air ces altérations donnant, d'après lui, des polysulfures, hyposulfite, sulfate, carbonate de sodium (ce dernier sel grâce au CO² de l'atmosphère) et enfin de la soude.

Conclusion. — L'absorption de l'hydrogène sulfuré, aux doses de 0,15 à 0,70 mg. environ (correspondant à 1,08 et 5,20 mg. de SNa², 9H²O) peut se faire dans le vide par 10 cm³ de soude décinormale en 4 heures avec une perte allant de 2 à 4 p. 100. C'est dans ces limites de quantités que nous nous sommes toujours placés dans les expériences ultérieures sur les tissus.

Application de cette technique aux tissus.

Appareil. — Les appareils utilisés, tous identiques, sont essentiellement des appareils à vide très petits dont la forme et les dimensions sont combinées de façon à réduire au minimum l'espace nuisible. Voici les caractéristiques de l'un d'eux (figure 1) :

Forme cylindrique ; le couvercle plat, rodé, porte en son centre un bouchon rodé et creux, prolongé par un tube en verre, avec robinet identique à celui des dessiccateurs à vide employés couramment dans les laboratoires.

Dimensions : hauteur totale 168 mm, intérieure 83 mm
diamètre intérieur 78 mm
volume intérieur 400 cm³

Il peut contenir deux cristallisoirs de 70 à 75 mm de diamètre et ayant ensemble une hauteur de 75 mm, un petit agitateur courbé en V est placé entre les deux cristallisoirs pour les séparer.

Mode opératoire. — Le tissu finement pulvé avec un pulpo-

broyeur, type Latapie, est pesé (1) dans un cristalliseur et ensuite mélangé intimement avec du soufre au moyen d'un petit agitateur. Le cristalliseur est placé au fond d'un appareil, recouvert du V et d'un autre cristalliseur renfermant 10 cm³ de soude décinormale. Le vide fait aussi rapidement que possible à la trompe à eau, l'appareil est abandonné à la température voulue. Après un temps déterminé, l'acide sulfhydrique, absorbé par la soude sous forme de monosulfure de sodium, est dosé suivant la méthode décrite.

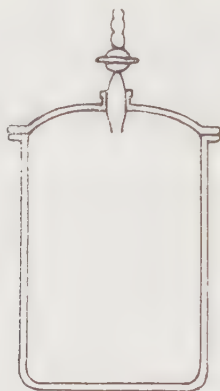


FIGURE 1. — Appareil à vide pour l'absorption de l'hydrogène sulfuré.

Pour permettre les comparaisons, tous les résultats obtenus sont exprimés en milligrammes d'hydrogène sulfuré pour 100 grammes de tissu.

(1) 1 à 10 gr. suivant la quantité d'hydrogène sulfuré produite qui doit toujours être comprise dans les limites indiquées.

CHAPITRE V

VARIATIONS DE LA PRODUCTION DE L'HYDROGENE SULFURE

A. — Nature et quantité de soufre.

Presque tous les auteurs, de Rey-Pailhade (79), Abelous et Ribaut (6), Heffter (34), Strassner (109) ont employé le soufre sublimé, certains en indiquent la quantité, ainsi Heffter en mélange 3 g. à 100 g. de tissu. E. Sluiter (106) utilise une solution de soufre colloïdal à 2 p. 100. Cependant aucun d'eux ne recherche la forme de soufre la plus convenable et la quantité la plus sûre pour obtenir d'une façon constante un maximum d'hydrogène sulfuré ; à notre avis, ces deux questions ne sont pas sans intérêt.

NATURE DU SOUFRE. — Les trois formes utilisées aujourd'hui dans la pharmacopée peuvent être envisagées, soit par degrés de division : le soufre colloïdal, le soufre précipité, le soufre sublimé.

1°) *Le soufre colloïdal.* — Les impuretés de ce produit (voir p. 17) suffisent déjà pour nous le faire écarter ; mais la possibilité d'un dosage témoin pour parer à cet inconvénient nous incite à essayer le soufre colloïdal.

Exp. B. 56. — Foie de bœuf — appareil à vide — température du laboratoire — contact 2 heures.

Foie : 2,50 g.	S. sublimé 0,50 g.	SH = 22,52 mg. p. 100 g.
» »	S. colloïdal 1/10 ² cm ³	» 2,81 » »
» »	S. colloïdal 1/100 ² cm ³	» 16,80 » »
» »	Solution toluénique saturée de soufre 5 cm ³	» 20,62 » »

Ainsi, l'addition de soufre colloïdal à 10 p. 100 et à 1 p. 100 trahit dans le premier cas une perte de 85 p. 100, dans le second de 30 p. 100 sur la quantité produite avec du soufre sublimé.

Cette perte ne peut être attribuée, comme nous l'avons pensé tout d'abord, à la plus grande rapidité d'action de la forme colloïdale, puisque la solution toluénique de soufre, agissant au moins aussi vite, provoque une diminution beaucoup plus petite, 10 p. 100. Peut-être l'acidité du produit et la présence d'eau peuvent-elles expliquer ce phénomène.

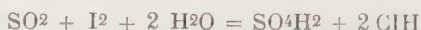
2°) *Le soufre précipité* est écarté de nos expériences car, même après des lavages répétés, il contient de l'hydrogène sulfuré adsorbé au cours de sa fabrication, l'odeur du produit suffit d'ailleurs à trahir la présence de ce gaz.

3°) *Le soufre sublimé lavé* est préféré à ces deux produits parce qu'il est beaucoup plus facile de l'avoir à un grand état de pureté.

Lavé à l'eau plusieurs fois, il ne contient plus de traces de SH^2 ou de SO^2 . Ce dernier générerait par son affinité pour l'hydrogène sulfuré :



et absorbé par la soude, sous forme de sulfite, il réagirait sur l'iode, en milieu acide :



QUANTITÉ DE SOUFRE. — Les expériences suivantes sont effectuées dans le but de rechercher la quantité de soufre minimum pour un maximum de dégagement :

Exp. ch 9. — Foie de Chien — appareils à vide — température ambiante 20° — contact 4 heures.

Foie	5 g.	soufre	0,50 g.	SH^2	7,65 mg.	p. 100 g.
"	"	"	1,00 "	"	5,20 "	"
"	"	"	2,50 "	"	8,92 "	"

Exp. ch 10. — Foie de Chien — appareils à vide — température ambiante 20° — contact 2 heures.

Foie	5 g.	soufre	0,25 g.	SH^2	4,80 mg.	p. 100 g.
"	"	"	0,50 "	"	5,20 "	"
"	"	"	1,00 "	"	6,80 "	"

Exp. b 101. — Foie de Bœuf — appareils à vide — température 41° — contact 1 heure.

Foie	2,50 g.	soufre	0,25 g.	SH^2	14,04 mg.	p. 100 g.
"	"	"	0,50 "	"	15,60 "	"
"	"	"	1,00 "	"	15,76 "	"
"	"	"	2,50 "	"	15,72 "	"

Exp. b 999. — Muscle ventriculaire de Bœuf — appareils à vide — température 41° — contact 1 h. 10 min.

Cœur	5 g.	soufre	1 g.	SH^2	7,54 mg.	p. 100 g.
"	"	"	2 "	"	8,40 "	"
"	"	"	3 "	"	8,44 "	"

Exp. b 100. — Muscle ventriculaire de Bœuf — appareils à vide — température 41° — contact 1 h. 30 min.

Cœur	5 g.	soufre	1 g.	SH^2	9,42 mg.	p. 100 g.
"	"	"	2 "	"	12,04 "	"
"	"	"	5 "	"	11,52 "	"

Exp. ch 121. — Sang total fluoré de Chien — appareils à vide — température 41° — contact 1 heure.

Sang	5 cm ³	soufre	3 g.	SH^2	6,20 mg.	par litre
"	"	"	5 "	"	9,20 "	"
"	"	"	10 "	"	8,80 "	"

Quoique cette expérience manque de précision par suite de la trop faible quantité de sang mise en œuvre, il nous a été possible de constater la nécessité de l'emploi du soufre en quantité suffisante pour obtenir une pâte homogène.

Ces essais permettent de distinguer trois cas différents :

1°) Pour les tissus dont la pulpe a une consistance presque fluide

(foie ou rate), il suffit d'employer une partie de soufre pour 5 de tissu ;

2°) Pour les tissus dont la pulpe a une consistance ferme (muscles), il faut utiliser une partie de soufre pour 3 de tissu ;

3°) Pour le sang, il est nécessaire de mélanger en quantité égale le soufre et ce liquide.

Il semble, à première vue, surprenant d'employer plus de soufre pour les tissus produisant moins d'hydrogène sulfuré, mais la quantité nécessaire étant bien supérieure à celle théoriquement combinée à l'hydrogène, il s'agit très probablement d'un phénomène mécanique de contact plus ou moins intime dépendant de la division du tissu pour les deux premiers cas, d'un phénomène de densité et de tension superficielle pour le sang.

B. — Soude absorbante.

La quantité et la concentration de la soude absorbante ont fait l'objet d'expériences suffisantes au chapitre précédent pour nous dispenser de les reprendre ici. Cependant, l'absorption de l'hydrogène sulfuré produit par les tissus est supérieure en précision à celle de l'hydrogène sulfuré déplacé du sulfure de sodium. Dans ce dernier cas, pour deux expériences absolument identiques, la quantité de sulfure de sodium formée représente 97 à 98 p. 100 de la quantité mise, l'erreur relative dépasse donc 1 p. 100. En opérant sur les tissus, nous avons été surpris de constater, avec des causes d'erreur plus nombreuses, une différence souvent plus petite entre deux dosages absolument identiques.

Cette constatation peut, à notre avis, s'expliquer de la façon suivante : l'hydrogène sulfuré est absorbé par la soude au fur et à mesure de sa formation par l'hydrogénation du soufre. Par décomposition d'un sulfure, au contraire, ce gaz est mis en liberté d'un seul coup.

C. — Tissus utilisés. — Leur degré de division.

TISSUS UTILISÉS. — Nous employons surtout le foie, l'un des tissus les plus riches en dérivés sulphydrylés, possédant un pouvoir réducteur très important et offrant en outre l'avantage d'être assez volumineux pour permettre un grand nombre d'expériences semblables. Ces essais sont contrôlés par d'autres sur divers tissus musculaires et sur la rate. Ce matériel animal est prélevé sur le Bœuf, le Veau, le Mouton, le Chien, le Lapin et le Pigeon.

DEGRÉ DE DIVISION. — Pour vérifier l'hypothèse infiniment probable d'une action hydrogénante d'autant plus marquée, que la pulpe est plus fine, nous essayons dans des conditions absolument identiques le même tissu divisé au hachoir de cuisine et au pulpo-broyeur, type Latapie.

Exp. b 15. — Foie de Bœuf — appareils à vide — température ambiante 18° — contact 3 heures.

Hachoir de cuisine	SH ²	9,62 mg. p. 100 g.
Pulpo-broyeur	"	12,25 " "

Dans chacun des cas, deux dosages semblables ont marqué un écart d'environ 2,8 p. 100.

D'autre part, les premières expériences faites avec un instrument assez grossier ont donné :

Exp. b 1. — Foie de Bœuf — mêmes conditions — SH² : 21 et 20,8 mg. p. 100 g.

Exp. b 2. — Autre foie de Bœuf — mêmes conditions — SH² : 19,44 et 19,61 mg. p. 100 g.

Le degré de division n'influe donc pas sur l'erreur relative, mais seulement sur la quantité produite.

D. — Addition d'eau au tissu.

Tous les auteurs, du moins ceux qui font usage de soufre sublimé, ajoutent de l'eau ou du sérum physiologique au tissu. Nous avons voulu savoir si l'addition d'un liquide neutre n'influe pas sur le phénomène.

Exp. b 59. — Foie de Bœuf 2,50 g. — soufre 0,50 g. — appareils à vide — température 40° — contact 2 heures.

Sans eau	SH ²	23,41 mg. p. 100 g.
+ eau 2 cm ³	"	19,72 " "
+ eau 5 cm ³	"	12,14 " "

Exp. ch 14. — Foie de Chien 5 g. — soufre 1 g. — appareils à vide — température ambiante — contact 2 heures.

+ eau 5 cm ³	SH ²	8,33 mg. p. 100 g.
+ eau 2 cm ³	"	5,71 " "

Exp. v 6. — Foie de Veau 2,50 g. — soufre 0,50 g. — appareils à vide — température 41° — contact 2 heures.

Sans eau	SH ²	23,44 mg. p. 100 g.
+ eau 1 cm ³	"	20,04 " "
+ eau 2 cm ³	"	13,86 " "

Exp. b 61. — 10 g. de foie de Bœuf sont placés avec 2 g. de soufre dans des ampoules fermées à la pression extérieure. Au bout de 2 heures, à la température ambiante, l'hydrogène sulfuré est entraîné et absorbé comme il a été indiqué (chapitre IV — A).

1°) sans eau	SH ²	1,24 mg. p. 100	avant acidification
" "	"	1,07 " "	après "
2°) + eau 10 cm ³	"	0,32 " "	avant "
" "	"	0,63 " "	après "

Exp. b 99. — Muscle cardiaque de Bœuf 5 g. — soufre 2 g. — appareils à vide — température 41° — contact 1 h. 10 min.

Sans addition de liquide		SH ²	7,76 mg. p. 100 g.
+ sérum physiologique	1 cm ³	»	7,54 » »
+ eau distillée	1 cm ³	»	7,44 » »
+ sérum physiologique	5 cm ³	»	4,42 » »
+ eau	5 cm ³	»	3,80 » »

Comment peut s'expliquer l'action perturbatrice exercée par l'addition d'eau ou de sérum physiologique ?

Ce ne peut être par la solubilité de l'hydrogène sulfuré dans ces liquides car, en soumettant au vide des solutions saturées de ce gaz, nous ne constatons pas la persistance de plus de 0,01 mg. pour 10 cm³ d'eau.

Une action mécanique, due à la tension superficielle et ayant pour effet d'empêcher un contact intime entre le soufre et le tissu, semble une explication plus vraisemblable que nous vérifions en employant des quantités de soufre croissantes dans les deux expériences suivantes :

Exp. b 104. — Foie de Bœuf — appareils à vide — température 41° — contact 1 heure.

Foie	5 g.	eau	2,5 cm ³	soufre	1,00 g.	SH ²	14,60 mg. p. 100 g.
»	»	»	»	»	1,50	»	17,72 » »
»	»	»	»	»	3,00	»	19,14 » »
»	»	»	»	»	5,00	»	19,18 » »
»	»	»	0	»	1,00	»	19,00 » »

Exp. b 105. — Foie de Bœuf — appareils à vide — température 41° — contact 1 heure.

Foie	5 g.	eau	0	soufre	1,00 g.	SH ²	16,08 mg. p. 100 g.
»	»	»	2,5 cm ³	»	1,50	»	15,04 » »
»	»	»	2,5 »	»	3,00	»	16,00 » »
»	»	»	5 »	»	3,00	»	13,22 » »
»	»	»	5 »	»	5,00	»	14,26 » »
»	»	»	5 »	»	7,00	»	15,93 » »

Il s'agit donc bien là d'un phénomène mécanique qui explique également la quantité de soufre nécessaire pour le sang.

E. — Réaction du milieu.

D'après tous les auteurs, et notamment E. Sluiter (106), la réaction a une grande influence sur le pouvoir réducteur du tissu. Pour cette étude, nous mélangeons le tissu avec la solution modifiant le pH ; celui-ci est déterminé au moyen de l'électrode à quinhydrone.

ACIDITÉ. — La solution employée est constituée par un acide de titre déterminé, les solutions tampons ayant trop peu d'action pour être utilisées.

Exp. b 10 — b 11 et b 12. — Foies de Bœuf — acide chlorhydrique N à N/10.

Les deux premières expériences ont pour but la recherche des quantités et des titres de ClH à employer — la troisième a donné les résultats suivants :

Appareils à vide — température 41° — contact 2 heures.

Foie	5 g.	ClH N/4	5 cm ³	pH	3,70	SH ²	0 mg.	p.	100 g.
"	"	ClH N/10	5 cm ³	"	5,90	"	10 "	"	"
"	"	eau	5 cm ³	"	7,45	"	12,5 mg.	"	"

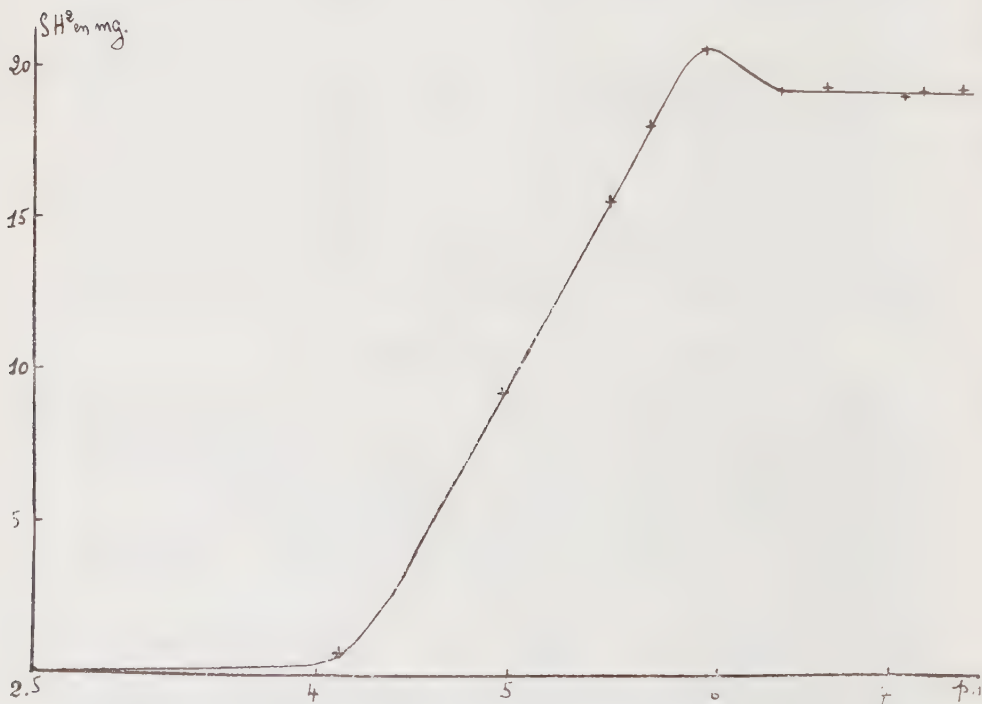
Exp. b 103. — Foie de Bœuf — appareils à vide — température 41° — contact 1 heure.

eau distillée	2,5 cm ³	p.	5 g.	de foie	pH	7,25	SH ²	17,78 mg.	p.	100 g.
ClH N/5	2,5 cm ³	"	"	"	"	5,90	"	19,82 "	"	"

Exp. b 104. — Foie de Bœuf — appareils à vide — température 41° — contact 1 heure.

Foie	5 g.	Solut. de Ringer	2,5 cm ³	pH	7,45	SH ²	19,22 mg.	p.	100 g.
"	"	Eau	2,5	"	7,25	"	19,16 "	"	"
"	"	ClH N/40	2,5	"	7,15	"	19,04 "	"	"
"	"	ClH N/20	2,5	"	6,74	"	19,22 "	"	"
"	"	ClH N/10	2,5	"	6,50	"	19,18 "	"	"
"	"	ClH N/8	2,5	"	6,10	"	20,50 "	"	"
"	"	ClH N/6	2,5	"	5,80	"	18,18 "	"	"
"	"	ClH N/4	2,5	"	5,58	"	15,54 "	"	"
"	"	ClH N/2	2,5	"	5,01	"	9,24 "	"	"
"	"	ClH N	2,5	"	2,49	"	0 "	"	"
"	"	ClH 2N/3	2,5	"	4,12	"	0,78 "	"	"

Ces résultats sont synthétisés dans le graphique 2. Jusqu'à pH 4



GRAPHIQUE 2. — Expér. b. 104. Variation de la production d'hydrogène sulfuré en fonction du p H.

environ, le dégagement d'hydrogène sulfuré est totalement empêché ; à pH 7,45 il n'y a aucun changement, sauf peut-être une légère augmentation à pH 6,10 n'atteignant pas 10 p. 100 et attribuable à la moins grande solubilité de l'hydrogène sulfuré dans ce liquide.

ALCALINITÉ. — Nous ne cherchons pas à obtenir par alcalinisation des pH supérieurs, l'excès d'alcali employé fixerait alors, sous forme de sulfure, une partie de l'hydrogène sulfuré qui échapperait ainsi au dosage. Nos expériences confirment celles de de Rey-Pailhade (79) constatant l'inhibition du phénomène en milieu acide et d'E. Sluiter (106) qui indique pH4 comme étant l'acidité limite de l'hydrogénation du soufre par les tissus. Nous pouvons rapprocher ces conclusions de celles d'Hopkins (38) quant au pouvoir absorbant des tissus vis-à-vis de l'oxygène, propriété détruite par une acidité trop forte.

F. — Influence de la température.

De Rey-Pailhade et les auteurs allemands indiquent comme la plus favorable la température de 40° ; Abelous et Ribaut trouvent une augmentation d'hydrogène sulfuré en proportion de la température (30° — 60° — 70° — 100° — 120°), ils opèrent non sur le tissu lui-même, mais sur une solution d'albumines extraites de celui-ci. Enfin, E. Sluiter opère à 38° (température physiologique) ; les expériences de cet auteur à des températures plus élevées (85° et 100°) montrent une production plus intense mais de très courte durée.

Nous nous proposons tout d'abord de rechercher la température la plus favorable à la réaction.

Exp. m 1. — Foie de Mouton — appareils à vide — contact 2 heures.

40°	SH ²	13,1	mg. p. 100 g.
24°	»	10,35	» »

Exp. ch 15. — Foie de Chien — appareils à vide — contact 2 heures.

0°	SH ²	2,65	mg. p. 100 g.
22°	»	4,65	» »

Exp. b 62. — Foie de Bœuf — appareils à vide — contact 2 heures.

5°	SH ²	4,42	mg. p. 100 g.
24°	»	12,54	» »
40°	»	22,78	» »

Exp. ch 110. — Foie de Chien — ampoules à la pression atmosphérique — contact 2 heures.

38°	SH ²	6,72	mg. p. 100 g.
70°	»	0,16	» »
100°	»	traces	» »

Exp. b 55. — Foie de Bœuf — ampoules à la pression atmosphérique — contact 2 heures.

40°	SH ²	10,20	mg. p. 100 g.
100°	»	2,31	» »

Sans faire intervenir une action diastasique, contestée par de nombreux auteurs, l'inhibition du phénomène à 70° et 100° peut s'expliquer par la décomposition du glutathion, fait prouvé par E. Sluiter.

S'il est logique d'expérimenter à la température physiologique, il est néanmoins utile de connaître les changements provoqués par de faibles variations de température.

Exp. b 114. — Foie de Bœuf — appareils à vide — contact 1 heure.

35°	SH ³	15,40 mg.	p. 100 g.
41°	»	15,77 »	»

Exp. b 115. — Foie de Bœuf — appareils à vide — contact 1 heure.

35°	SH ²	20,49 mg.	p. 100 g.
41°	»	20,98 »	»
46°5	»	21,33 »	»

Exp. b 116. — Muscle cardiaque de Bœuf — appareils à vide — contact 1 heure.

40°	SH ²	8,97 mg.	p. 100 g.
46°5	»	10,54 »	»

Les variations de température ne dépassant pas quelques degrés n'ont donc pas une influence notable sur la production de l'hydrogène sulfuré.

La température de 41°, souvent indiquée, est celle de l'étuve dans laquelle les appareils sont placés, l'intérieur se trouve alors à 38°.

G. — Durée de dégagement de l'hydrogène sulfuré.

Pour connaître exactement l'importance de la réduction du soufre en un temps donné, il faudrait arrêter la réduction et laisser se poursuivre, pendant 4 heures, l'absorption de l'hydrogène sulfuré par la soude pour que celle-ci fut totale (voir plus haut). en réalité nous arrêtons ces deux réactions en même temps. Nos chiffres ne donnent donc pas la quantité réelle, mais indiquent seulement le sens et la marche du phénomène. Ils sont obtenus dans les conditions suivantes, les plus favorables ou les plus rapprochées de celles de la vie : sans aucune addition de liquide, addition de un cinquième de soufre au foie, de deux cinquièmes au muscle, température de l'étuve, 41°.

DÉBUT DU DÉGAGEMENT. — Pour l'étude du premier élément du problème : le temps dont nous pouvons disposer pour mettre en train l'expérience, le mélange (soufre et tissu) n'est pas introduit dans l'appareil immédiatement, comme dans les autres expériences, mais après un temps variable.

Exp. ch 17. — Foie de Chien — appareils à vide — température ambiante (1) — contact 1 heure.

Mélange fait 5 min. avant l'aspiration à la trompe $SH^2=6,6$ mg. p. 100 g.
 " " 20 " " " " " 6,0 " "
 " " 30 " " " " " 4,4 " "

Le dégagement ne commence donc pas notablement avant 5 minutes, puisque entre 5 et 20 minutes la perte observée n'atteint pas plus de 10 p. 100 ; or, le mélange du soufre et du tissu ainsi que la mise dans l'appareil ne demande pas plus de 1 à 2 minutes.

La rapidité avec laquelle le vide est obtenu pourrait agir beaucoup plus efficacement.

Exp. ch 112. — Foie de Chien — appareils à vide — étuve 41° — contact 1 heure.

1 minute d'aspiration $SH^2 = 13,30$ mg. p. 100 g.
 5 " " " 14,10 " "
 15 " " " 10,54 " "

Exp. b 71. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve 41° — contact 2 heures.

1 m. 30 s. d'aspiration $SH^2 = 20,42$ mg. p. 100 g.
 5 m. " " 20,00 " "
 7 m. 30 s. " " 18,31 " "

L'aspiration provoque donc une perte très faible d'hydrogène sulfuré. Le vide peut d'ailleurs, avec nos appareils, être obtenu en moins d'une minute.

FIN DU DÉGAGEMENT. — La décomposition du tissu, surtout pour des glandes comme le foie ou la rate, rend la fin du dégagement très difficile à déterminer.

Cependant, un grand nombre d'essais qualitatifs avec le papier au sous-acétate de plomb montrent une production d'au moins 48 heures ; dans le même temps, des essais témoins faits avec des tissus non additionnés de soufre ne donnent qu'un léger brunissement du papier. Les deux expériences suivantes permettent d'apprécier quantitativement le phénomène :

Exp. b 97. — Foie de Bœuf — étuve à 41°.

1°) Appareils à vide :

premières 24 heures $SH^2 = 43,9$ mg. p. 100 g.
 les 10 cm³ de soude décinormale ayant servi sont remplacés
 par 10 cm³ neufs.
 deuxièmes 24 heures $SH^2 = 32,3$ mg. p. 100 g.

2°) Ampoules scellées dans le vide :

24 heures de contact $SH^2 = 61,0$ mg. p. 100 g.
 48 " " " 93,2 " "
 pendant les deuxièmes 24 heures
 il s'est donc produit $SH^2 = 32,2$ mg. p. 100 g.

(1) Il est inutile de porter à 41 degrés, au contraire la différence est plus accentuée à une température moins élevée. D'autre part, le temps choisi (une heure) convient très bien pour la même raison.

	foie bœuf 111	foie veau 1	foie chien 103	foie bœuf 113	foie bœuf 54	foie chien 105	foie veau 2	foie veau 4	foie chien 104	foie bœuf 58
15 min.	7,00			7,10						
30 min.	10,00			12,38						
1 h.	17,06	11,3	12,8	18,64	10,71	20,36			19,52	16,38
1 h. 30	22,24			21,76						
2 h.	28,36	14,2	20,1	24,32	14,48	38,22	20,1		23,84	
3 h.				29,38	18,86	45,36	25,30	22,8	38,12	26,75
4 h.										33,50
5 h.								25,2	51,20	
6 h.								37,6	67,04	39,90
7 h.										51,01
8 h.										63,66
9 h.										
24 h.										
graphiques	3 bis			3 bis					3	3

TABLEAU 6

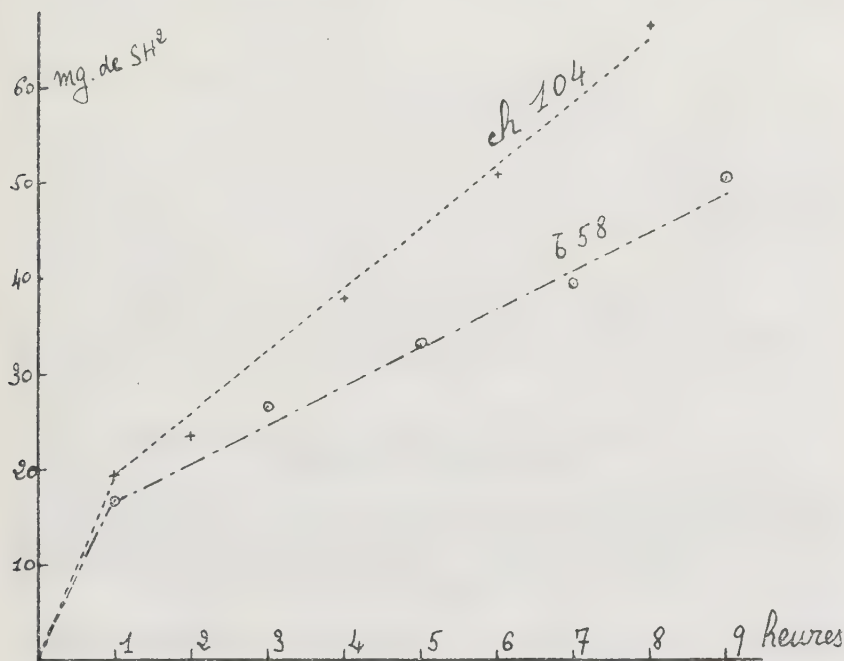
Chiffres exprimant l'hydrogène sulfuré en mg. pour 100 g. de tissu.

Exp. v 7. — Muscle ventriculaire de Veau — appareils à vide — étuve à 41°. — Même processus que pour la première partie de l'expérience précédente :

premières 24 heures	$\text{SH}^2 = 21,82$ mg. p. 100 g.
deuxièmes 24 heures	» 6,23 » »

MARCHE DU DÉGAGEMENT. — Tous les résultats, classés dans le tableau 6, pour en faciliter la comparaison, sont obtenus au moyen d'appareils à vide avec le processus expérimental indiqué plus haut (p. 33).

Il est facile de constater que la quantité d'hydrogène sulfuré absorbée est plus importante au début, pendant la première ou les deux premières heures ; après ce temps, la forme linéaire des courbes (graphiques 3 et 3 bis) indique une production constante qui, d'après

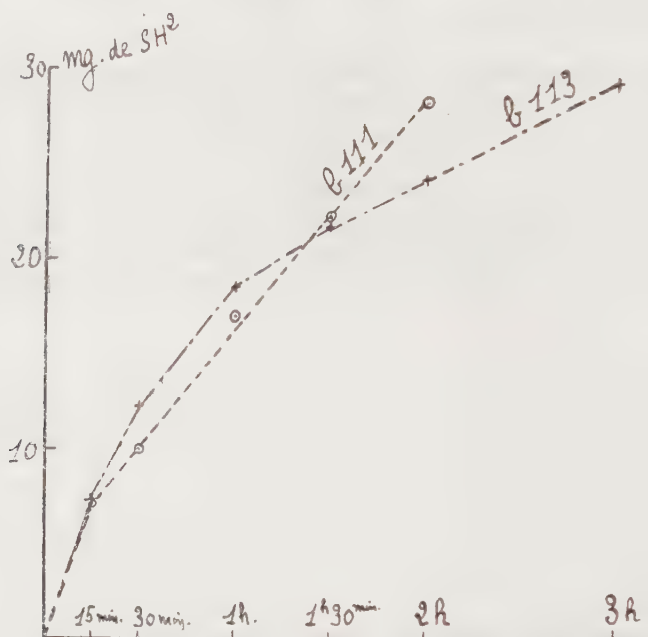


GRAPHIQUE 3. — Hydrogène sulfuré dégagé en des temps variant de 1 à 9 heures.

les expériences b 97 — v 7 — et b 58, se ralentit ensuite. E. Sluiter, constatant après deux heures une production insignifiante, semble donc en contradiction formelle avec ces résultats, mais il faut considérer que cet auteur additionne toujours le tissu de toluène et nous verrons plus loin l'action inhibitrice de cet antiseptique.

Nous négligeons à dessein les expériences de longue durée pour deux raisons : elles n'ont pas un intérêt pratique très grand pour

l'établissement d'une méthode de dosage, la décomposition du tissu fait intervenir un élément que nous n'avons jamais pu éliminer.



GRAPHIQUE 3 bis. — Hydrogène sulfuré dégagé en des temps variant de 0 à 3 heures par les foies de deux chiens.

H. — Production d'hydrogène sulfuré par le tissu non additionné de soufre.

La plupart des expériences précédentes sont accompagnées de témoins non additionnés de soufre. Il est intéressant, en effet, de savoir si, en l'absence de soufre, le tissu est capable de produire de l'hydrogène sulfuré ; voici quelques-uns de ces résultats :

Exp. ch 2. — Foie de Chien — appareils à vide — température ambiante — contact 16 heures.

Avec 1/5 de soufre	SH ² = 22,2 mg. p. 100 g.
sans soufre	» 0,3 " " "

Exp. v 3. — Foie de Veau — appareils à vide — température ambiante — contact 20 heures.

Avec 1/5 de soufre	SH ² = 22,4 mg. p. 100 g.
sans soufre	» 1,8 " " "

Exp. b 58. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve à 41° — contact 6 heures.

Avec 1/5 de soufre	SH ² = 37,80 mg. p. 100 g.
sans soufre	» 0,87 " " "

La production d'hydrogène sulfuré par le foie seul en des temps très courts, une ou deux heures, n'a pu être mesurée parce que trop faible et avec le muscle seul il en est de même pour des temps assez longs.

Il résulte de ces expériences que, en l'absence de soufre, la quantité d'hydrogène sulfuré produite par décomposition des dérivés sulfhydrylés des tissus est très variable, mais cependant négligeable. Peut-elle être totalement supprimée ? C'est ce que nous avons recherché en ajoutant à du foie un antiseptique, le fluorure de sodium.

Exp. b 65. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve à 41° — contact 8 heures.

sans soufre	SH ² = 2,5 mg. p. 100 g.
sans soufre, addition de FNa pulv. 1/10	» 1,8 » »

Le fluorure de sodium est donc incapable d'empêcher totalement ce phénomène de décomposition.

I. — Différences entre les résultats obtenus dans le vide et à la pression atmosphérique.

Protocoles expérimentaux. — Nous avons déjà exposé plus haut les raisons nous permettant de supposer une production d'hydrogène sulfuré plus élevée dans le vide que dans l'atmosphère. Pour vérifier cette hypothèse, nous employons la méthode des ampoules en utilisant, pour l'absorption, deux techniques :

1°) Ou bien l'hydrogène sulfuré produit est dosé en bloc, la même solution de soude absorbant le gaz existant dans l'atmosphère de l'ampoule et celui mis en liberté après acidification par l'acide phosphorique ;

2°) Ou bien ces deux parties sont dosées séparément, la solution alcaline absorbante étant remplacée avant l'addition d'acide.

Les autres conditions des expériences, faites pour la plupart sur du foie de Bœuf ou de Chien, sont les suivantes : addition au tissu de un cinquième de son poids de soufre en l'absence de liquide, ampoules plongées dans un bain-marie maintenu à 40°.

Durée du dégagement. — La durée de dégagement de l'hydrogène sulfuré, en présence d'air, n'est pas examinée spécialement. Opérant en présence de l'air, Heffter (34) constate une durée du phénomène de 48 heures au minimum ; des essais qualitatifs avec le papier au sous-acétate de plomb, nous conduisent à la même conclusion. La présence ou l'absence d'air semblent donc sans influence sur la durée du phénomène.

Quantité d'hydrogène sulfuré. — Nous avons observé dans le vide, en deux heures, une production d'hydrogène sulfuré variant entre 14 et 38 mg. pour 100 g. de foie (tableau 6). En ampoules, à la pression atmosphérique, pour 5 foies de Bœuf, nous obtenons des chiffres

allant de 3,43 mg. à 10,20 mg. pour 100 g. (tableau 7) : encore faut-il considérer que l'hydrogène sulfuré n'est pas absorbé dans le vide dans le temps de sa production ; en ampoules, au contraire, l'absorption est totale.

Expériences N°	Temps de contact	SH ² en mg. pour 100 g.		Total
		avant acidification	après acidification	
b 60 foie Bœuf	2 heures	2,22	2,88	5,10
b 95 — —	—	6,46	2,04	8,50
b 54 — —	—			3,43
b 55 — —	—			10,20
b 55 bis —	—			8,12
ch. 110 Chien	8 heures			6,72

TABLEAU 7

SH² dégagé par action du soufre sur 6 foies de Bœuf à la pression atmosphérique ; dans les deux premiers SH² est dosé avant et après acidification.

Hydrogène sulfuré retenu par le tissu. — Deux des expériences effectuées à la pression atmosphérique sont conduites en dosant séparément SH² avant et après acidification (tableau 7), elles indiquent une proportion assez importante d'hydrogène sulfuré retenu par le tissu. Dans le vide, cette quantité est tellement insignifiante que nous ne pouvons la doser exactement : elle ne dépasse jamais 0,02 mg. pour 2,50 g. de foie ; pour les autres tissus, comme le muscle, elle est plus faible encore et ne peut être mesurée.

Nous avons déjà prévu plus haut ces résultats : en présence d'air le soufre est hydrogéné par les dérivés sulfhydrylés en compétition avec l'oxygène. De plus, il est normal qu'à la pression atmosphérique le tissu retienne l'hydrogène sulfuré dont le dégagement, au contraire, est facilité par le vide

J. — Sensibilité des dosages. -- Erreurs.

Le plus souvent la pulpe est pesée à un centigramme près, ce qui constitue une erreur variant de ± 1 pour 100 à ± 1 pour 1000 suivant la quantité de tissu mise en œuvre (1 à 10 g.). Deux expériences semblables sont toujours faites parallèlement et le résultat est rejeté quand les chiffres diffèrent de plus de 10 p. 100 entre eux, soit 5 pour 100 avec la moyenne ; mais nous pourrions citer beaucoup d'expériences dans lesquelles l'erreur est extrêmement petite :

Exp. b 81. — Foie de Bœuf 21,40 et 21,18. — Erreur avec la moyenne 1,1 pour 100.

Exp. b 94. — Foie de Bœuf 36,92 et 36,60. — Erreur avec la moyenne 0,87 pour 100.

Exp. ch 108. — Foie de Chien 20,0 - 20,0 - 20,0 et 20,6 (calculs faits à une décimale seulement).

Exp. v 6. — Foie de Veau 23,12 et 23,12. — Erreur 0, etc...

D'autre part, nous nous sommes demandé si la non proportionnalité prétendue par E. Sluiter entre l'hydrogène sulfuré dégagé et la quantité de tissu employée existe bien ou si le phénomène est inhérent à la méthode de dosage employée par cet auteur.

Exp. b 73. — Foie de Bœuf pesé exactement — appareils à vide — température 41° — contact 2 heures.

poids de pulpe	SH ² en mg.	SH ² pour 100 g.	Erreur p. 100
2,522 g.	0,527	20,89	— 0,86
2,475 g.	0,510	21,01	— 0,29
3,825 g.	0,816	21,33	+ 1,23

Exp. b 76. — Foie de Bœuf pesé au centigramme — appareils à vide — température 41° — contact 1 heure.

poids de pulpe	SH ² en mg.	SH ² pour 100 g.	Erreur
2,50 g.	0,306	12,24 mg.	0
5,00 g.	0,612	12,24 »	0

Exp. ch 120. — Foie de Chien pesé au centigramme — appareils à vide — température 41° — contact 1 heure.

poids de pulpe	SH ² en mg.	SH ² pour 100 g.	Erreur p. 100
2,50 g.	0,093	3,72 mg.	— 0,26
5,00 g.	0,187	3,74 »	+ 0,26

(Nous choisissons à dessein cette expérience dans laquelle les résultats sont inférieurs à ceux habituellement obtenus ; l'organe est prélevé sur un animal ayant subi de nombreuses manipulations avant sa mort.)

Ces trois expériences, prises à titre d'exemple parmi beaucoup d'autres, donnant des résultats semblables, montrent une proportionnalité entre la quantité d'hydrogène sulfuré absorbée et celle de tissu mise en œuvre ; or, nous avons vu que, pour un temps donné l'hydrogène sulfuré absorbé représente un pourcentage déterminé de l'hydrogène sulfuré produit, à condition de se trouver entre certaines limites ; par conséquent il y a aussi proportionnalité entre le gaz produit et le tissu employé.

Nous devons avouer que les erreurs obtenues dans des expériences de longue durée sont généralement plus grandes : ce fait provient des rentrées d'air dans les appareils et nous avons constaté d'autre part la rapidité d'altération des solutions d'hydrogène sulfuré en présence d'air.

*
* *

Tous ces essais nous amènent à préciser les conditions suivantes comme étant les plus favorables et les plus rapprochées de la vie, le soufre étant remplacé dans ce cas par l'oxygène :

1°) Le *soufre* sublimé lavé doit être employé à la dose *minimum* de 1 partie pour 5 de foie ou 2 parties pour 5 de muscle ; l'addition d'un excès de soufre ne présente aucun inconvénient ;

2°) La dose de 10 cm^3 de *soude décinormale* convient très bien pour l'absorption ;

3°) La *plus grande division* du tissu donne les meilleurs résultats ;

4°) L'*addition d'eau* ou de sérum physiologique ne facilite en rien la réaction et nécessite l'emploi d'une quantité de soufre proportionnellement beaucoup plus grande ;

5°) Il est inutile de *modifier la réaction* du tissu ;

6°) La *température de 38°* (étuve à 41°) est employée parce que c'est la température de la vie : de petits écarts de température provoquent des variations très faibles dans les résultats ;

7°) Il faut opérer le *plus rapidement possible* pour avoir le moins de perte possible ;

8°) Le *résultat est proportionnel* à la quantité de tissu à condition que les chiffres soient compris entre 0,15 et 0,70 mg. d'hydrogène sulfuré : pour cela nous utilisons entre 1 et 10 g. de tissu ;

9°) Il n'y a aucun intérêt à *prolonger le temps de contact* puisque après la première heure, la marche de la réaction est uniforme ; une durée très courte aura l'avantage de limiter les risques de fuite et, en rendant l'expérience moins longue, de permettre l'utilisation de la méthode pour des dosages « en série » ;

10°) Enfin il faut insister sur le fait suivant : l'hydrogène sulfuré dosé ne représente pas la quantité totale produite, mais une partie seulement ; toutefois, les *chiffres obtenus sont toujours comparables entre eux*.

A l'aide de ces données, nous nous proposons tout d'abord de rechercher l'origine du dégagement, c'est-à-dire comment peut s'expliquer cette *action hydrogénante du tissu sur le soufre*.

CHAPITRE VI

RECHERCHES PERSONNELLES SUR L'ORIGINE DE LA PROPRIÉTÉ HYDROGENANTE DES TISSUS SUR LE SOUFRE

Tous les auteurs sont d'accord pour attribuer la production de l'hydrogène sulfuré au philothion et au glutathion ; de Rey Pailhade (79 à 101) et Heffter (33 et 34) ont prouvé surabondamment cette propriété du philothion ; Hopkins (35) et E. Sluiter (106) sont parvenus à produire de l'hydrogène sulfuré par action du glutathion isolé sur le soufre. Mais la nature, diastasique ou non, du phénomène a donné lieu à bien des controverses.

Il est maintenant certain que la réaction



ne nécessite l'intervention d'aucune diastase. Et la réduction des disulfures régénère les groupements sulphydrylés suivant la réaction :



L'hydrogène provient, dans ce cas, soit d'une décomposition de l'eau dont l'oxygène est utilisé pour les oxydations anaérobies, soit d'un donateur d'hydrogène. Les expériences sur la durée du dégagement de SH^2 montrent bien une production régulière pendant les dix premières heures au moins. Nous avons déjà fait remarquer cette contradiction avec les résultats de E. Sluiter et nous avons supposé une action perturbatrice due au toluène ajouté au milieu par cet auteur. Les auteurs allemands trouvent, en effet, une inhibition du phénomène par les antiseptiques. La réduction du soufre par les tissus en présence de ces corps mérite donc des recherches spéciales qui peuvent nous éclairer sur le mécanisme de production de l'hydrogène sulfuré.

A. — Antiseptiques.

I. FLUORURE DE SODIUM.

Le fluorure de sodium est employé sous forme de solution à 4 p. 100 ou le plus souvent en poudre. Il est mélangé intimement au tissu avant l'addition du minimum de soufre nécessaire.

Exp. v 5. — Foie de Veau — appareils à vide — étuve à 41° — contact 1 heure.

Pulpe 2,50 g. + 2 cm ³ eau distillée	$\text{SH}^2 = 12,07$ mg. p. 100 g.
» » + 2 cm ³ FNa à 4 %	» 9,52 » »

Exp. ch 105. — Foie de Chien — appareils à vide — étuve à 41° — temps de contact variable — addition de 0,10 g. de fluorure à 2,50 g. de pulpe.

	sans FNa	avec FNa
1 heure	$\text{SH}^2 = 20,36$ mg. p. 100 g.	14,76 mg. p. 100 g.
2 »	38,22 »	20,40 »
3 »	45,36 »	24,68 »

L'addition de fluorure de sodium semble provoquer une inhibition du phénomène et devant ces résultats deux questions se posent :

1°) L'addition de fluorure à dose suffisante parvient-elle à inhiber complètement l'hydrogénation du soufre ?

2°) La diminution de l'hydrogène sulfuré est-elle proportionnelle au temps ?

Addition du fluorure à doses croissantes. — La réponse à la première question ne peut se faire qu'en additionnant le même poids de tissu de quantités croissantes de fluorure.

Exp. ch 108. — Foie de Chien — appareils à vide — étuve 41° — contact 2 heures.

pulpe 2,50 g.	+	FNa pulv.	0	SH ² = 35,6 mg. p. 100 g.
" "	+	" "	0,10 g.	" 20,0 " "
" "	+	" "	0,20 g.	" 20,6 " "
" "	+	" "	0,50 g.	" 20,0 " "
" "	+	" "	1 g.	" 20,0 " "

L'addition de fluorure de sodium supprime donc une partie de la réaction quelle que soit la dose employée à partir d'une quantité minimum dont la détermination nous a semblé inutile. Pour les expériences ultérieures, nous employons une partie de cet antiseptique pour 10 de tissu.

Action du fluorure en des temps variables. — Une première série d'expériences effectuées dans les mêmes conditions (appareils à vide placés dans l'étuve à 41°) montrent (tableau 8), pour une quantité de fluorure de sodium égale au dixième du poids du tissu, un dégagement d'hydrogène sulfuré diminué :

De 10 à 15 pour 100 pour un contact de 1 heure ;

De 40 à 50 pour 100 pour un contact de 2 heures.

Nature du tissu et numéro de l'expérience	SH ² en mg. pour 100 g. de tissu			
	1 heure		2 heures	
	avec FNa	sans FNa	avec FNa	sans FNa
Foie de Bœuf 66....			14,0	26,40
— — 68....			19,80	38,80
Rate de Bœuf 74....			6,02	12,11
Foie de Bœuf 76....	12,24	13,84		
— — 79....	16,90	19,92		
— — 80....			16,36	30,44
Cœur de Bœuf 98...			7,00	12,38
Foie de Chien 108..			20,00	35,60
— — 113..	11,08	12,32		

TABLEAU 8.

Comparaison des résultats obtenus avec et sans fluorure de sodium.

Durée des expériences	SH ₂ en mg. pour 100 g.					
	foie b 65	foie b 67	foie b 69	foie b 72	foie ch 113	foie fœtus ch 114
30 minutes	9,60					
1 heure	14,40				11,08	4,62
1 h. 30	16,80					
2 heures	20,2				17,20	6,70
3 —	23,2		18,8		19,24	9,00
4 —			18,2			9,68
5 —		24,0	18,2	20,67		10,02
7 —		24,0				
15 —				20,76		

TABEAU 9
Quantités d'hydrogène sulfuré produites avec des tissus additionnés
de fluorure de sodium

Ex. ch 108. — Foie de Chien — mêmes conditions.

	avec FNa	sans FNa
2 heures	SH ² = 20,0 mg.	35,6 mg. p. 100 g.
24 "	" 69,2 "	25,2 " "

L'expérience ch. 105 indiquée plus haut est également caractéristique, ainsi que les deux suivantes effectuées sur des animaux dont le métabolisme est vraisemblablement très diminué par les nombreuses manipulations subies avant leur mort.

Exp. ch 120. — Foie de Chien ayant reçu du venin d'aspic — appareils à vide — étuve 41° — contact 1 heure.

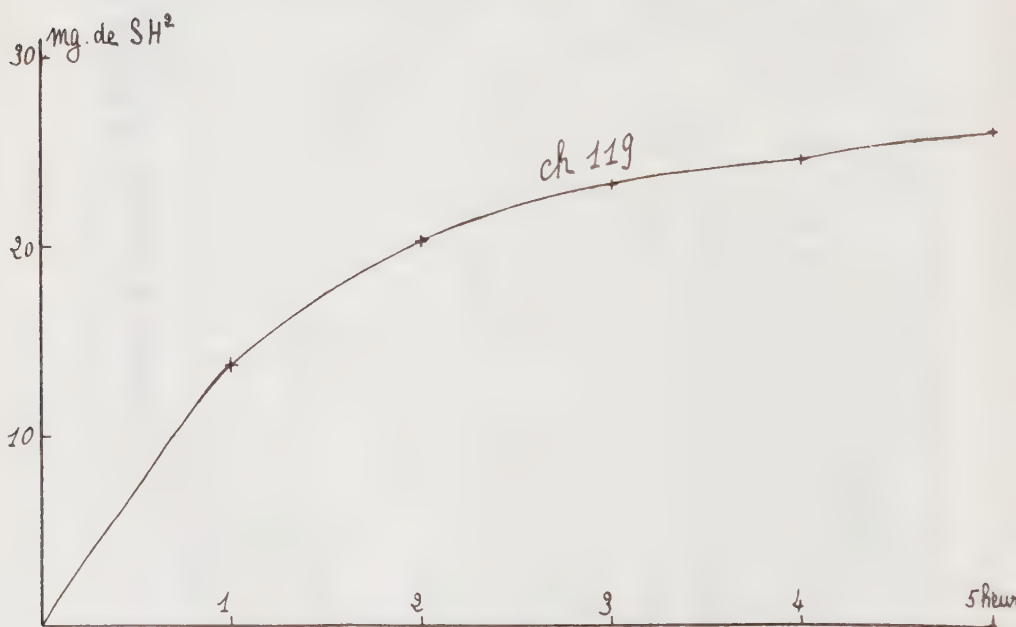
avec FNa	SH ² = 3,73 mg. p. 100 g.
sans FNa	" 4,24 " "

Exp. ch 111. — Foie de Chien ayant subi de nombreuses injections (venin d'aspic — adrénaline, etc...) — appareils à vide étuve 41° — contact 2 heures.

avec FNa	SH ² = 6,2 mg. p. 100 g.
sans FNa	" 8,2 " "

Il existe donc toujours une relation proportionnelle entre l'action du tissu avec ou sans antiseptique.

Marche et durée du dégagement en présence du fluorure. — Cette inhibition du dégagement, proportionnelle au temps, indique, sem-



GRAPHIQUE 4. — Hydrogène sulfuré produit en des temps variant de 1 à 5 heures par un foie de chien additionné de fluorure de sodium.

ble-t-il, un phénomène de courte durée. Dans un très grand nombre d'expériences (tableau 9), nous constatons, en effet, que la production d'hydrogène sulfuré se tarit très vite en présence de fluorure de sodium. Les résultats ainsi obtenus montrent qu'après 5 heures le dégagement s'arrête presque. Les graphiques (graphique 4) n'ont pas une forme linéaire comme en l'absence d'antiseptique et se rapprochent du graphique d'absorption de l'hydrogène sulfuré déplacé d'un sulfure alcalin (graphique 1). A vrai dire, il est possible de vérifier un brunissement du papier au sous-acétate de plomb après 5 heures, mais la quantité produite est extrêmement faible et, en tenant compte du graphique 4, nous pouvons affirmer que la presque totalité de l'hydrogène sulfuré se produit pendant la première heure ou même la première demi-heure. Ces résultats concordent donc absolument avec ceux de E. Sluiter et nous avons raison de supposer la cause de notre divergence apparente avec cet auteur dans l'emploi du toluène inhibant vraisemblablement le dégagement de la même façon que le fluorure de sodium.

2. OXALATE DE POTASSIUM.

Nous avons utilisé de l'oxalate de potassium pulvérisé.

Exp. b 66. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve 41° — contact 2 heures.

Pulpe seule	SH ² = 26,4 mg. p. 100 g.
» + FNa pulv. 1/10	» 14,0 » »
» + Oxalate de K pulv. 1/5	» 14,0 » »

Exp. b 80. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve 41° — contact 2 heures.

Pulpe seule	SH ² = 30,44 mg. p. 100 g.
» + FNa pulv. 1/10	» 16,36 » »
» + Oxalate de K pulv. 1/10	» 16,08 » »
» + » » 1/20	» 16,66 » »

L'oxalate de potassium possède donc une action analogue et sensiblement égale à celle du fluorure.

3. TOLUÈNE.

Le toluène est mélangé au tissu avant l'addition du soufre comme il a été procédé pour le fluorure de sodium et l'oxalate de potassium.

Exp. b 108. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étude 41° — contact 1 heure.

Pulpe seule 2,50 g.	SH ² = 16,59 mg. p. 100 g.
» 2,50 g. + FNa 0,25 g.	» 11,78 » »
» " + " » + toluène 0,5 cm ³	» 11,94 » »
» " + toluène 5 cm ³	» 13,12 » »

Nous recherchons alors si la dose de toluène est suffisante.

Exp. b 109. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve 41° — contact 1 heure.

Pulpe 5 g.	+ O	SH ² = 17,16 mg. p. 100 g.
" "	+ FNa 0,50 g.	" 12,24 " "
" "	+ Toluène 1 cm ³	" 17,10 " "
" "	+ " 2 cm ³	" 16,18 " "

De plus, pour vérifier si la quantité de 2 cm³ de toluène est vraiment suffisante, nous soumettons au vide une demi heure avant l'addition de soufre de façon à enlever l'excès de toluène.

Pulpe 5 g. + toluène 2 cm³ SH² = 11,04 mg. pour 100 g.

Ce résultat semble indiquer qu'un contact prolongé entre le toluène et le tissu est nécessaire pour obtenir l'action cherchée.

Exp. b 110. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve 41° — contact 1 heure.

Pulpe 5 g.	+ O	SH ² = 17,27 mg. p. 100 g.
" "	+ FNa 0,50 g.	" 13,03 " "
" "	+ Toluène 5 cm ³	réaction immédiate " 14,28 " "
" "	+ " "	" 1 h. après " 11,02 " "
" "	+ " "	" 2 h. après " 10,92 " "

Exp. b 112. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve 41° — contact 1 heure.

Pulpe 5 g.	+ O	SH ² = 19,08 mg. p. 100 g.
" "	+ FNa 0,50	réact. imméd. " 15,60 " "
" "	+ " "	" 1 h. après " 15,78 " "
" "	+ Toluène 0,50 cm ³	" 14,00 " "

Le toluène a donc une action un peu plus marquée que le fluorure mais plus lente ; il faut, avant de faire l'expérience, le laisser agir sur le tissu pendant une heure au moins.

B. — Chauffage préalable du tissu.

Ces résultats avec les antiseptiques peuvent être comparés à ceux que E. Sluiter obtient par chauffage préalable du tissu. Nous avons repris les essais de cet auteur par notre méthode et en comparant les résultats avant et après chauffage de deux façons, avec et sans fluorure de sodium.

Exp. b 81. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve 41° — contact 1 h. 45 min.

La pulpe est chauffée, avant l'expérience, au bain-marie bouillant et en ampoule scellées. Malgré cette précaution, nous observons sur les parois des ampoules des gouttelettes provenant de la dessiccation du tissu et, après avoir noté la perte de poids, nous la remplaçons par de l'eau distillée que nous mélangeons intimement à la pulpe.

I. Foie non traité avec FNa 1/10	SH ² = 17,14 mg. p. 100 g.
" " " sans " "	" 21,28 " "
II. Foie chauffé.	" 5,70 " "

Le chauffage à 100° provoque une perte en dérivés sulfhydrylés, aussi un traitement plus modéré semble-t-il plus convenable.

Exp. b 68. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve 41° — contact 2 heures.

Même processus expérimental que précédemment, mais B. M. à 70° seulement pendant 30 minutes.

I. Foie non traité avec FNa	1/10	SH ² =	19,8 mg. p. 100 g.
» » » sans » »	»	»	38,8 » »
II. Foie après chauff ^{se} avec FNa	1/10	»	19,8 » »
» » » sans » »	»	»	18,0 » »

Exp. b 66. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve 41° — contact 2 heures.

Même traitement que le précédent.

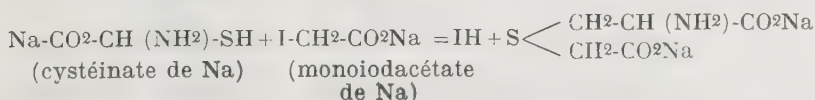
I. Foie non traité avec FNa	SH ² =	14,0 mg. p. 100 g.
» » » sans FNa	»	26,4 » »
II. Foie chauffé avec FNa	»	14,8 » »
» » » sans FNa	»	15,6 » »

Les résultats obtenus à 65-70° sont à peu près les mêmes avec ou sans fluorure de sodium. Il semblerait que nous ne puissions attacher une grande importance à ces essais, E. Sluiter ayant prouvé par un traitement analogue, une décomposition partielle des dérivés sulfhydrylés avec production d'hydrogène sulfuré. Mais, ne trouvant nous-même, par le papier au sous-acétate de plomb, que des traces d'hydrogène sulfuré, nous pouvons cependant tirer de ces expériences la conclusion que le chauffage à 65-70° (température tuant habituellement les diastases) supprime le dégagement d'hydrogène sulfuré sensible à l'action du fluorure de sodium.

C. — Addition d'acide monoiodacétique.

L'élimination des dérivés sulfhydrylés peut nous permettre de connaître leur rôle partiel ou total dans la réaction. Nous cherchons tout d'abord à supprimer les groupements (-SH) en les oxydant par l'iode. Pour cela, nous additionnons le tissu d'une quantité d'iode décinormale suffisante pour oxyder soit la totalité, soit la moitié du glutathion déterminé par la méthode de Tunnicliffe (118) modifiée par L. Randoïn et R. Fabre (64). Cette façon de procéder ne nous a pas donné les résultats cherchés, car il se forme un disulfure R-S-S-R réductible par le tissu lui-même ; le dérivé sulfhydrylé régénéré agit sur le soufre.

Pour la neutralisation du glutathion des tissus, Rapkine (75), et Aubel, Khouvine et Aragon (11) emploient l'acide monoiodacétique qui donne un composé d'addition non réductible suivant la réaction :



Ces auteurs recommandent un contact d'au moins une heure entre le tissu et un excès de solution monoiodacétique pour que le glu-

tation soit complètement combiné. Nous suivons ces conseils et employons l'acide monoiodacétique en solution vingtinormale.

Exp. b 106. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve à 41° — contact 1 heure.

Foie 5 g. + eau 2,5 cm ³	SH ² = 17,84 mg. p. 100 g.
» » + FNa 0,50 g. + eau 2,5 cm ³	» 12,88 » »
» » + ac. monoiodacétique N/20 2,5 cm ³	» 0,60 » »
» » + FNa 0,50 g. + ac. monoiodacétique N/20 2,5 cm ³	» 0,26 » »

Exp. b 107. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve 41° — contact 1 heure — réaction aussitôt après mélange.

I. Foie 5 g. + FNa 0 + ac. monoiodacétique N/20 2,5 cm ³	SH ² = 1,02 mg. p. 100 g.
II. Foie 5 g. + FNa 0,50 g. + ac. monoiodacétique N/20 2,5 cm ³	» 0,14 » »

Réaction 1 heure après le mélange.

I. Foie 5 g. + FNa 0 + ac. monoiodacétique N/20 2,5 cm ³	SH ² = 0,20 mg. p. 100 g.
II. Foie 5 g. + FNa 0,50 g. + ac. monoiodacétique N/20 2,5 cm ³	» 0,14 » »

Le tissu seul, sans soufre et sans ac. monoiodacétique, donne :

I. sans FNa	SH ² = 0,24 mg. p. 100 g.
II. avec FNa	» 0,14 » »

Ces résultats sont suffisamment nets pour nous permettre d'affirmer que la neutralisation des dérivés sulphydrylés, par combinaison avec l'acide monoiodacétique, entraîne de façon presque complète la disparition de la fonction hydrogénante des tissus vis-à-vis du soufre.

D. — Addition de citrate de sodium.

D'après E. Sluiter, l'addition de « donateurs » d'hydrogène et notamment de citrates, provoque une augmentation notable d'hydrogène sulfuré. Les expériences précédentes prouvant que seuls les dérivés sulphydrylés ont une action sur le soufre, nous recherchons les raisons de cette contradiction apparente en ajoutant au tissu une solution à 2 p. 100 de citrate de sodium (c'est à peu près le taux utilisé par E. Sluiter).

Exp. b 118. — Foie de Bœuf — appareils à vide — étuve à 41° — contact 1 heure.

1°) pulpe 2,50 g.	SH ² = 18,70 mg. p. 100 g.
» » + solution de citrate 0,25 cm ³	» 19,80 » »
» » + » » 0,50 »	» 23,44 » »
» » + » » 0,75 »	» 23,44 » »
» » + » » 1 »	» 23,60 » »
» » + » » » »	» » » »
+ ac. monoiodacétique N/20 2,5 cm ³	traces indosables

L'addition de « donateurs » d'hydrogène au tissu entraîne donc bien une augmentation du pouvoir réducteur de celui-ci, mais n'em-

pêche pas l'inhibition complète du phénomène par l'acide mono-iodacétique.

E. — Influence du vieillissement des tissus.

D'après tous les auteurs, notamment Hopkins (35) et M. T. Régner (78), le glutathion se transforme dans les tissus âgés en disulfure, phénomène retardé par le froid (Morel et Delore (55). E. Sluiter trouve une diminution rapide du pouvoir hydrogénant. Nous expérimentons de façon à étudier cette diminution avec ou sans fluorure de sodium.

Expériences. — Pour cela nous prélevons sur des lapins, aussitôt la mort et après saignée, le foie et les muscles des membres postérieurs. Notre méthode de dosage habituelle est pratiquée le jour de la mort, le lendemain, le surlendemain, trois jours après ; les tissus étant conservés à la glacière.

Les résultats réunis dans le tableau 10 indiquent une perte du

N ^{os} des expériences	Conditions expérimentales	SH ² en mg. pour 100 g.			
		le jour de la mort	24 h. après	48 h. après	72 h. après
foie du lapin n° 1	sans FNa.	30,56		30,94	
	avec FNa.	24,17		18,52	
	différence.	6,39		12,42	
foie du lapin n° 2	sans FNa.	22,44	20,62		20,60
	avec FNa.	20,52	16,12		14,72
	différence.	1,92	3,50		6,12
foie du lapin n° 3	sans FNa.	42,92		29,24	22,84
	avec FNa.	36,04		21,60	18,12
	différence.	6,88		8,44	4,72
muscle du lapin n° 1	sans FNa.	3,88			
	avec FNa.				
	différence.				
muscle du lapin n° 2	sans FNa.	3,06	3,26		
	avec FNa.	3,03	3,08		
	différence.	0,03	0,18		
muscle du lapin n° 3	sans FNa.	2,58		2,72	
	avec FNa.	2,21		2,24	
	différence.	0,37		0,48	

TABLEAU 10
Production d'hydrogène sulfuré dans des tissus âgés.

pouvoir hydrogénant beaucoup plus forte en présence du fluorure. Les foies des lapins 1 et 2 ne marquent pas de diminution sensible quand l'expérience est pratiquée en l'absence de fluorure. La faible augmentation parfois remarquée, surtout pour les muscles, provient de la perte d'eau des tissus.

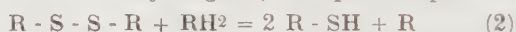
Tous ces résultats se contrôlent entre eux et leur ensemble nous permet de tenter l'explication suivante du phénomène :

1°) L'action hydrogénante des tissus sur le soufre est attribuable uniquement aux dérivés sulphydrylés, glutathion et philothion, et leur disparition par combinaison avec l'acide monoiodacétique laisse aux pulpes un pouvoir réducteur insignifiant sur ce métalloïde :



2°) Cependant, la réaction (1) n'est pas la seule en cause, il faut tenir compte de la réduction des disulfures formés avec la régénération des groupements sulphydrylés actifs ; celle-ci s'opère de deux façons :

a) par les « donateurs » d'hydrogène, fait prouvé par le citrate de sodium :



b) en réaction couplée avec une oxydation, nous pouvons exprimer le mécanisme complexe d'après les théories de Wieland, Meyeroff, Thurlow, etc., par le résultat final :



Les antiseptiques, fluorure, oxalate et toluène, agiraient sur ce stade en tant qu'inhibiteurs d'oxydation. Ils détruisent probablement les oxydases capables de décomposer l'eau et leur différence d'action proviendrait de la destruction d'une ou plusieurs de ces diastases. Si la réaction elle-même ne requiert aucun enzyme, la diminution de la production d'hydrogène sulfuré, sous l'action du fluorure (de même que par le chauffage à 65-70° de l'hydrogène sulfuré, peut s'expliquer par la suppression d'une grande partie de cette action réversible (3).

3°) D'autre part, dans les tissus âgés, la baisse du pouvoir hydrogénant, plus marquée en présence du fluorure de sodium, proviendrait de la transformation des dérivés sulphydrylés en disulfures qui, en présence de cet antiseptique, ne seraient plus régénérés comme en (2) ou en (3).

CHAPITRE VII

RESULTATS AVEC LES TISSUS DE DIFFERENTS ANIMAUX

Pour doser le pouvoir hydrogénant des tissus vis-à-vis du soufre, en tenant compte des conclusions des deux chapitres précédents, nous effectuons le dosage dans les conditions suivantes :

CONDITIONS EXPÉRIMENTALES.

- 1°) L'appareil employé est l'appareil à vide décrit plus haut.
- 2°) La réaction est faite avec le soufre sublimé lavé, à la dose de une partie pour 5 de foie, pour 2 de muscle.
- 3°) Le tissu est divisé au pulpo-broyeur type Latapie.
- 4°) L'hydrogène sulfuré est absorbé par 10 cm³ de soude décinormale.
- 5°) Le tissu n'est additionné d'aucun liquide.
- 6°) La réaction du milieu est celle du tissu lui-même.
- 7°) Les appareils sont placés dans une étuve maintenue à 41° pour que leur température intérieure soit de 38°.
- 8°) Le temps de réaction et d'absorption est de une heure, un contact prolongé ne présentant aucun avantage.
- 9°) Aucun antiseptique n'est utilisé.
- 10°) Le mode opératoire est décrit plus haut.

VALEUR DES RÉSULTATS.

Le résultat du dosage doit se trouver compris entre 0,15 et 0,70 mg. d'hydrogène sulfuré ; il est facile d'utiliser la quantité de tissu nécessaire pour se trouver entre ces limites. Tous les chiffres obtenus n'expriment qu'une partie de l'hydrogène sulfuré produit, mais sont comparables entre eux.

RÉSULTATS.

1°)	Bœuf foie	58	SH ₂ = 16,38 mg. p. 100 g.
	"	76	" 13,84 " "
	"	79	" 19,92 " "
	"	96	" 18,04 " "
	"	101	" 15,76 " "
	"	102	" 17,84 " "
	"	103	" 17,78 " "
	"	104	" 19,00 " "
	"	105	" 16,08 " "
	"	106	" 17,84 " "
	"	108	" 16,59 " "
	"	109	" 17,16 " "

1°)	Bœuf foie	110	SH ² = 17,27 mg. p. 100 g.
	»	111	» 17,06 » »
	»	112	» 19,08 » »
	»	113	» 18,64 » »
	cœur	98	» 6,39 » »
	rate	74	» 6,05 » »
2°)	Chien foie	104	» 19,52 » »
	»	105	» 20,36 » »
	»	112	» 15,30 » »
	»	113	» 12,32 » »
	foie de fœtus	114	» 4,62 » »
3°)	Lapin foie	1	» 30,56 » »
	»	2	» 22,44 » »
	»	3	» 42,92 » »
	»	4	» 32,71 » »
	muscles de la cuisse	2	» 3,06 » »
	»	3	» 2,58 » »
	»	4	» 4,76 » »
4°)	Pigeon foie	1	» 44,43 » »
	»	2	» 44,29 » »
	»	4	» 48,63 » »
	»	5	» 38,78 » »
	»	6	» 40,63 » »
	muscles pectoraux	1	» 6,59 » »
	»	2	» 6,92 » »
	»	3	» 7,60 » »
	»	4	» 8,77 » »
	»	5	» 6,98 » »
	»	6	» 8,41 » »

Il nous paraît intéressant de comparer en un seul tableau tous ces résultats.

L'examen du tableau 11 nous permet de vérifier les constatations

	SH ² en mg. pour 100 g.			
	maximum	minimum	moyenne	Nombre de résultats
Foie de Bœuf.....	19,92	13,84	17,47	15
— Chien	20,36	12,32	16,87	4
— Lapin	42,92	22,44	32,30	4
— Pigeon ...	48,63	38,78	43,35	5
Muscles de Lapin ..	4,76	2,58	3,47	3
— Pigeon..	8,77	6,59	7,54	6

TABLEAU 11

Quantités d'hydrogène sulfuré produites par des tissus de différents animaux, maximum, minimum, moyenne

de E. Sluiter découvrant chez les petits animaux un pouvoir réducteur des tissus plus important que chez les gros animaux. Le fait est très intéressant, car il semble indiquer un parallélisme entre l'hydrogène sulfuré formé et le métabolisme, celui-ci étant beaucoup plus intense chez les petits que chez les gros animaux.

D'ailleurs, beaucoup d'auteurs, de Rey-Pailhade le premier, ont comparé ou rapproché le pouvoir hydrogénant des tissus sur le soufre de leur pouvoir absorbant vis-à-vis de l'oxygène.

Métalloïde de la même famille, l'oxygène agit très probablement comme le soufre, et le dosage de l'hydrogène sulfuré, dans les conditions indiquées, nous paraît une méthode pratique d'apprécier la capacité d'oxygénation d'un tissu.

DEUXIÈME PARTIE

APPLICATION DE LA TECHNIQUE ÉTABLIE A L'ÉTUDE DE L'AVITAMINOSE B ET DE L'INANITION

CHAPITRE VIII

INTRODUCTION

Nous avons examiné au début de ce travail le rôle assigné par tous les auteurs aux dérivés sulfhydrylés dans le métabolisme cellulaire et nous avons nous-même apporté une preuve de plus en faveur d'une réaction en « circuit fermé ». Les maladies diminuant les oxydations tissulaires n'agissent-elles pas indirectement, soit en abaissant la teneur des tissus en dérivés sulfhydrylés, soit en enlevant à ceux-ci leur faculté de s'oxyder ou de se réduire ? Nous cherchons à vérifier cette hypothèse en utilisant notre méthode de dosage pour apprécier le pouvoir « oxydatif » des tissus prélevés sur des animaux sains ou malades.

Les Oxydo-Réductions dans l'Avitaminose B.

Parmi ces maladies, la carence en Vitamine B a déjà fait sur ce point l'objet de beaucoup de recherches fructueuses. C'est, en particulier à Mme L. Randoïn et H. Simonnet (71, 72 et 73) que revient l'honneur de prouver la nécessité de la présence du facteur B découvert en 1889 par Eijkmann et très étudié par la suite, pour permettre aux cellules d'utiliser l'énergie potentielle contenue dans les glucides alimentaires.

Ces auteurs constatent notamment, fait contrôlé ensuite par Mme L. Randoïn et R. Lecoq (67) que la précocité des crises est en fonction de la quantité des glucides ingérés ; par contre (Mme L. Randoïn et H. Simonnet (74)), un régime, privé de glucides, uniquement constitué de protides et de lipides, peut entretenir les animaux trois ou quatre fois plus longtemps. D'après ces auteurs, la désintégration des glucides, dans l'avitaminose B, donne des composés intermédiaires dont l'accumulation dans l'organisme déclenche l'apparition des crises de polynévrite, accidents nerveux caractéristiques de cette maladie.

R. J. Anderson et W. L. Kulp (10), C. J. Farmer et H. E. Redenbaugh (30) constatent une diminution du métabolisme de base,

correspondant à l'abaissement de température observé par tous les auteurs, et X. Chahovitch (49) une diminution du métabolisme de sommet.

A. Bickel (14), G. Shinoda (105), H. M. Evans et S. Lepkowski (25), H. W. Kinnersley et R. A. Peters (47), B. Sure et E. M. Smith (111), S. K. Kon (48) et enfin J. Roche (102 et 103) étudient plus spécialement le métabolisme du carbone ; pour ces auteurs l'élévation du rapport C/N urinaire est dû à la non combustion par les tissus du carbone qui n'est plus éliminé par les poumons sous forme de gaz carbonique.

Au cours de ces expériences, l'animal, souvent nourri par gavage, est alimenté suffisamment, car son organisme est capable de faire des réserves grasses (E. F. Terroine et B. Barthélémy (112) et des réserves hydrocarbonées (H. Magne et H. Simonnet (51), Mme L. Randoin et E. Lelesz (70). D'autre part la quantité d'oxygène nécessaire aux combustions est suffisante, comme l'ont montré E. Abderhalden et E. Wertheimer (2) qui n'ont pas constaté de combustion plus importante en faisant respirer l'animal dans une atmosphère de ce gaz.

« De ces faits on peut conclure », suivant l'expression de Mme L. Randoin et R. Fabre (64) que, « dans l'avitaminose B la production d'une réaction réductrice couplée deviendrait impossible ou insuffisante. On peut imaginer qu'un véhicule d'oxygène fait défaut ».

Avitaminose B et Glutathion.

En 1927, Mme L. Randoin et R. Fabre (64 et 65) ont l'idée de rechercher dans la diminution du glutathion la cause de l'abaissement du pouvoir réducteur des tissus d'animaux carencés en vitamine B, ce pouvoir réducteur étant intimement lié, comme nous l'avons vu, aux réactions d'oxydation, d'après les lois d'oxydo-réduction.

1°) Dans leurs expériences sur le Pigeon, animal particulièrement sensible à l'avitaminose B, ces auteurs déterminent les teneurs en glutathion réduit du sang, des muscles squelettiques, du cœur, du foie et notent pour chacun de ces tissus normaux des variations individuelles notables

2°) Ils constatent chez le Pigeon sous-alimenté un abaissement général du glutathion, beaucoup plus marqué dans les muscles squelettiques que dans les autres tissus.

3°) Chez le Pigeon privé de vitamines B, ils observent un abaissement du glutathion très notable pour les muscles squelettiques, peu accentué pour le cœur et le sang et une tendance à l'augmentation dans le foie ; les variations individuelles sont trop considérables pour permettre aux auteurs une conclusion définitive vis à vis de cet organe.

4°) Enfin, toujours dans le cas de l'avitaminose B, il leur a été

permis d'observer une augmentation de substances réductrices non constituées par des **dérivés sulfhydrylés**.

Renouvelant en 1931 leurs expériences, mais cette fois sur le Rat, Mme L. Randoïn et R. Fabre (66) aboutissent à des conclusions analogues.

Ces auteurs rapprochent leurs constatations du fait que, « en l'absence de vitamine B, les glucides ne semblent plus être utilisés comme source d'énergie par défaut d'un moyen de réaliser normalement la combustion du glucose » et pensent que l'abaissement du taux du glutathion ne suffit pas à expliquer complètement le phénomène.

Nous nous proposons ici de rechercher quel retentissement peut avoir le manque de vitamine B sur le pouvoir réducteur des tissus, celui-ci étant mesuré par l'importance du dégagement d'hydrogène sulfuré dosé en utilisant notre technique.

CHAPITRE IX

CONDUITE DES EXPERIENCES

Nous choisissons pour entreprendre ces recherches le Pigeon-adulte qui, de l'avis de tous les expérimentateurs, et notamment de Mme L. Randoin et de ses collaborateurs, est l'animal le plus sensible à l'avitaminose B et dont la température centrale relativement élevée (42°-43°) peut s'abaisser jusqu'aux environs de 36°.

D'après Mme L. Randoin et R. Lecoq (68 et 69), Williams et Waterman (122) et Reader (76) il existe 3 facteurs B :

1°) Une vitamine B¹, thermolabile et alcalinolabile spécialement antinévritique, ayant un rôle d'équilibre nerveux ;

2) Une vitamine B², thermostable et alcalinostable ;

3°) Une vitamine B³, assez stable à la chaleur, mais alcalinolabile, ayant toutes deux un rôle dans l'utilisation des principes énergétiques et surtout des glucides.

C'est l'avitaminose B totale que nous provoquons.

Le nombre total des Pigeons en expérience est de 39 répartis en 4 groupes :

1°) 6 d'entre eux reçoivent un régime normal constitué de graines de céréales entières ; blé, maïs, sarrasin.

2°) 7 sont soumis à l'inanition totale avec eau distillée à volonté.

3°) 9 sont nourris exclusivement de riz décortiqué, 20 g. par 24 heures qui, presque toujours, ne sont pas entièrement consommés. Ils sont par conséquent privés non seulement de vitamine B mais encore de A, C et D.

4°) Enfin 17 sont gavés avec le régime artificiel 12 P. (référence du laboratoire de Mme L. Randoin) renfermant tous les principes indispensables dans les proportions les plus convenables à l'exception des vitamines B et dont voici la composition :

Caséine	6
Fibrine	5
Albumine	5
Mélange de sels.....	4
Dextrine	66
Graisse de beurre	4
Agar-Agar	8
Papier filtre	2

A. Effets obtenus sur le poids et la température.

1°) *Inanition*. — Nous observons pour les Pigeons soumis à l'inanition une chute extrêmement rapide de la température et du poids (tableau 12). La température initiale de 42° à 43° s'abaisse très rapi-

Pigeon n°		Poids		Température	
		initial	final	initiale	finale
1193	mort le 8 ^e jour.....	233 g.	140 g.	42°	37°3
1194	— 6° —	260 g.	160 g.	42°5	38°2
1195	— 8° —	260 g.	150 g.	42°2	37°5
1205	— 5° —	240 g.	147 g.	43°	38°7
1206	sacrifié le 6 ^e jour...	235 g.	150 g.	42°7	36°
1207	— 7° — ...	295 g.	197 g.	42°5	36°8
1208	— 6° — ...	240 g.	198 g.	42°5	39°3

TABEAU 12
Pigeons soumis à l'inanition, variations du poids
et de la température.

dement à 38°, 37° et même 36° en cinq ou six jours. En même temps le poids de l'animal est abaissé d'environ 33 p. 100. Quatre sujets ont succombé les cinquième, sixième et septième jours, les autres ont été sacrifiés peu avant la mort dans les mêmes délais.

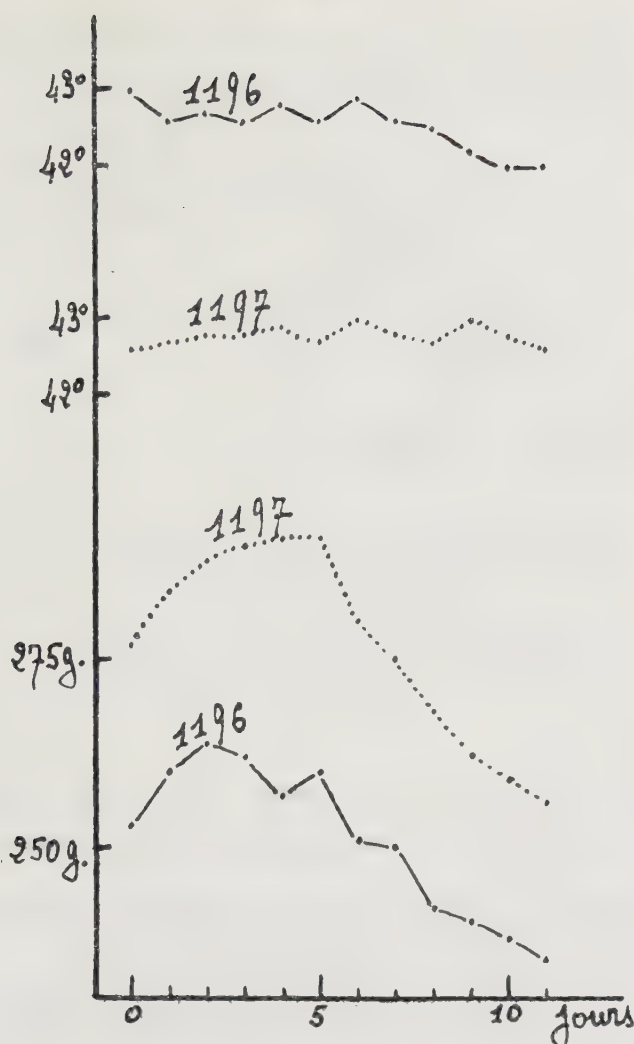
2°) *Riz poli*. — Nous avons rassemblé dans le tableau 13 tous les résultats obtenus chez les Pigeons nourris de riz poli en choisissant trois chiffres : avant l'expérience, après 11 jours de régime, c'est-à-dire au début de la chute de température, et le jour de la mort. L'examen de ce tableau montre chez tous les animaux un amaigrissement plus ou moins marqué, une chute de température peu importante le 11^e jour et atteignant jusqu'à 5° à la fin de la maladie. Les graphiques, dont nous donnons quelques exemples (graphiques 5 et 6), indiquent généralement une augmentation de poids les trois ou quatre premiers jours puis une diminution lente et continue jusqu'à la fin. La température se maintient à peu près normale pendant une dizaine de jours pour certains, pendant une quinzaine pour d'autres et même 25 jours pour l'un, puis baisse graduellement et lentement jusqu'au 24^e, 25^e, 26^e jours pour quatre sujets. A partir de ce moment, la chute de température se fait plus rapide et les crises de polynévrite apparaissent vers le 29^e et 30^e jour ; ces Pigeons sont alors sacrifiés pour permettre les recherches sur leurs tissus. Nous avons déjà effectué des dosages sur les tissus de trois d'entre eux sacrifiés après 11 et 13 jours de régime. Un autre est mort accidentellement et enfin le dernier put résister 51 jours sans crises, les accidents nerveux ne se manifestant chez lui que par un défaut d'équilibre très marqué

La quantité de nourriture mise à la disposition de chacun de ces oiseaux, 20 grammes, n'est que très rarement consommée en totalité, surtout à la fin de l'expérience, la paralysie du tube digestif provoquant une perte de l'appétit qui permet aux animaux de se dé-

Pigeon n°			Poids			Température		
			initial	le 11 ^e j.	dernier jour	initiale	11 ^e jour	dernier jour
1196		sacrifié le 11 ^e jour.....	253 g.	235 g.	235 g.	43°	42°	42°
1197		— 11 ^e —	277 g.	256 g.	256 g.	42°6	42°6	42°6
1198		— 13 ^e —	258 g.	236 g.	230 g.	42°8	41°7	41°
1199	1 ^{re} crise le 29 ^e jour	— 30 ^e —	225 g.	219 g.	166 g.	42°8	42°4	40°3
1200	— 32 ^e —	— 34 ^e —	242 g.	251 g.	175 g.	43°	42°8	39°5
1201	pas de crise nette..	mort le 51 ^e jour	268 g.	262 g.	152 g.	42°5	42°2	38°6
1202	pas de crise nette..	sacrifié le 25 ^e jour	261 g.	241 g.	187 g.	42°8	42°4	37°8
1203	pas de crise.....	mort accidentelle le 18 ^e j.	227 g.	238 g.	157 g.	42°7	42°3	41°1
1204	1 ^{re} crise le 29 ^e jour	sacrifié le 29 ^e jour.....	264 g.	220 g.	197 g.	42°4	42°6	37°5

TABEAU 13

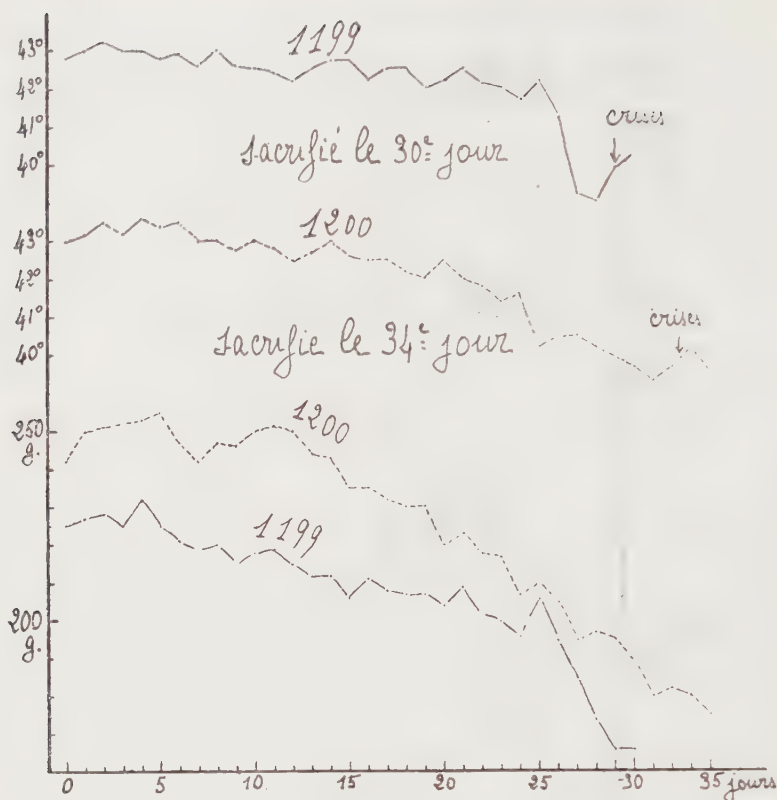
**Pigeons nourris de Riz poli : poids et température
au début, dans la première période de la maladie et à la fin.**



GRAPHIQUE 5. — Courbes de poids et de température de deux pigeons nourris uniquement de riz poli et sacrifiés au 11^e jour de régime.

fendre contre les accidents nerveux. Cette défense de l'organisme ajoute aux accidents déterminés par la carence ceux provoqués par le jeûne.

3°) *Régime artificiel.* — Presque tous les auteurs, utilisant le Pigeon comme animal d'expérience, le nourrissent par gavage au moyen d'un régime spécial qu'ils peuvent alors équilibrer de façon à le priver uniquement du facteur B. C'est ce que nous faisons nous-mêmes, la carence par le riz poli nous apportant d'autre part des



GRAPHIQUE 6. — Courbes de poids et de température de deux pigeons nourris uniquement de riz poli.

renseignements utiles parce qu'elle se rapproche davantage des carences observées dans la vie courante.

Nous divisons en trois lots les animaux en expérience :

a) Trois sont sacrifiés à la première période de la maladie après 11 et 12 jours de régime alors que la température commence à baisser.

b) Trois autres le sont à la deuxième période, c'est-à-dire après la première crise (15^e et 16^e jour).

c) Les quatre derniers peu avant leur mort après 3, 4 et même 5 crises, trois le 17^e et un le 26^e jour.

Un Pigeon est mort après treize jours de régime sans avoir fait d'accidents nerveux, cinq après 16, 18 et 20 jours en pleine crise. Enfin les deux derniers, morts le 13^e jour sont parasités par des vers intestinaux du genre ascaris. Nous rassemblons dans le tableau 14 les résultats obtenus sur le poids et la température, en choisissant comme précédemment les trois chiffres : le premier, le onzième et le

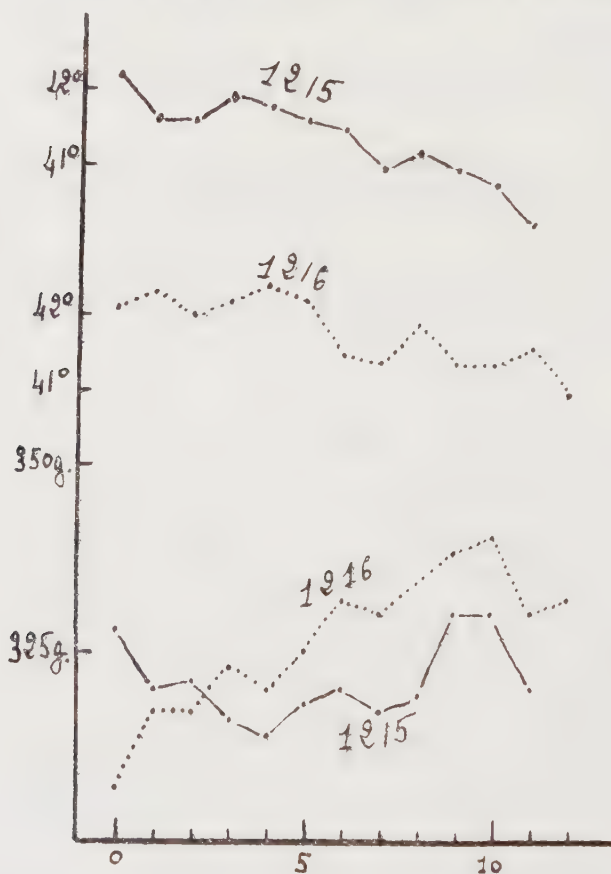
Pigeon n°			Poids			Température		
			initial	11 ^e jour	le der- nier jour	initiale	11 ^e jour	le der- nier jour
1208	pas de crise.....	mort le 13 ^e jour.....	358 g.	350 g.	327 g.	42°6	41°5	40°
1209	— —	sacré le 12 ^e jour.....	297 g.	312 g.	324 g.	42°8	42°1	38°5
1210	1 ^{re} crise le 18 ^e jour.....	mort le 18 ^e jour.....	322 g.	345 g.	314 g.	42°2	41°9	38°9
1211	— 14 ^e —	sacré le 14 ^e jour.....	267 g.	259 g.	250 g.	42°6	40°9	39°3
1212	— 15 ^e —	— 16 ^e —	467 g.	430 g.	420 g.	43°2	41°7	38°5
1213	— 16 ^e —	mort le 17 ^e jour.....	391 g.	380 g.	359 g.	42°3	41°2	38°9
1214	— 15 ^e —	sacré le 16 ^e jour.....	287 g.	310 g.	300 g.	42°4	42°7	36°2
1215	pas de crise.....	— 11 ^e —	328 g.	320 g.	320 g.	42°2	40°3	40°3
1216	— —	— 12 ^e —	307 g.	330 g.	332 g.	42°1	41°6	41°
1217	1 ^{re} crise le 15 ^e jour.....	mort le 16 ^e jour.....	347 g.	360 g.	317 g.	42°	41°6	40°
1218	— 18 ^e —	— 20 ^e —	292 g.	285 g.	250 g.	41°6	42°	37°6
1219	crises peu marquées	— 16 ^e —	362 g.	360 g.	361 g.	41°9	41°8	37°5
1220 (1)	pas de crise.....	— 13 ^e —	400 g.	351 g.	355 g.	42°2	40°5	39°
1221	1 ^{re} crise le 15 ^e jour.....	sacré le 17 ^e jour.....	315 g.	292 g.	268 g.	42°3	41°	38°7
1222	— 24 ^e —	— 26 ^e —	385 g.	345 g.	285 g.	42°	41°2	39°6
1223 (1)	pas de crise.....	mort le 13 ^e jour.....	315 g.	295 g.	295 g.	41°7	41°4	40°
1224	1 ^{re} crise le 16 ^e jour.....	sacré le 18 ^e jour.....	415 g.	380 g.	346 g.	42°	41°7	39°2

TABLEAU 14

**Pigeons gavés avec le régime 12 P. : poids et température au début,
dans la première période de la maladie et à la fin.**

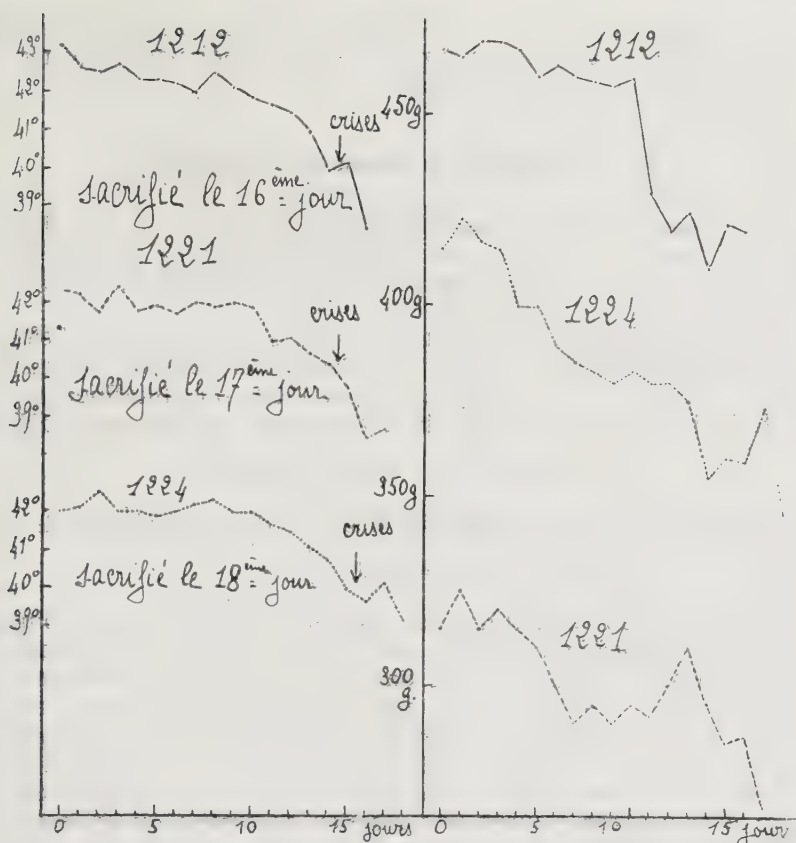
(1) Les pigeons 1220 et 1223 étaient parasités des vers du genre ascaris.

dernier jour. L'examen de ce tableau permet de constater une chute de poids peu marquée et bien moins importante que celle provoquée par le riz et une baisse de température importante à peu près du même ordre : sur 17 Pigeons nous notons après 11 jours une seule augmentation de 0°4 (Pigeon 1218), neuf baisses de moins de 1° et sept de 1° à 1°9 ; sur les 13 Pigeons ayant fait des accidents nerveux nous observons des écarts allant de 2° à 6°2 entre les températures initiale et finale. Les graphiques (voir à titre d'exemple les graphiques 7 et 8) montrent un abaissement de température se produisant presque immédiatement dans certains cas et ne se déclenchant pour d'autres qu'après une dizaine de jours de régime.



GRAPHIQUE 7. — Courbes de poids et de température de deux pigeons gavés avec le régime 12 P et sacrifiés dans la première période de traitement.

En même temps nous avons observé les accidents caractéristiques de l'avitaminose B. Vers le 14^e et 15^e jour nous voyons apparaître



GRAPHIQUE 8. — Pigeons soumis au régime 12 P. Courbes de température et de poids.

d'abord une paralysie progressive du pharynx et du jabot. L'animal ne peut plus déglutir la nourriture et même si celle-ci arrive jusqu'au jabot par l'effet du gavage, cet organe ne se vide plus et se laisse distendre. Peu de temps après les troubles digestifs, apparaissent les troubles moteurs se manifestant d'abord par un défaut d'équilibre et de direction : le Pigeon fait quelques pas en cercle, puis tombe en avant, il se relève et retombe encore, il ne vole que difficilement. Puis, il est atteint de tremblement généralisé et la paralysie de certains muscles du cou entraîne une rétraction permanente de la tête. Enfin apparaissent les crises convulsives proprement dites, caractérisées par une extension des pattes en avant, les doigts écartés, la tête se renverse complètement en arrière, l'animal bat des ailes et le corps tout entier finit par culbuter complètement. Les crises se reproduisent deux ou trois fois par jour et durent chacune de 30 minutes à deux heures. Le Pigeon périt parfois pendant la première, le plus souvent après plusieurs.

Ces accidents que nous avons observés chez nos animaux sont bien ceux décrits par tous les auteurs ; c'est pourquoi nous n'avons pas voulu les détailler plus longuement.

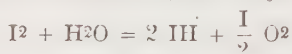
B. — Effets sur la teneur en Glutathion.

Nous avons indiqué les résultats obtenus par Mme L. Randoïn et R. Fabre (64 et 65) dans leurs remarquables études sur les variations de la teneur en glutathion du Pigeon carencé en vitamine B.

PRINCIPE DU DOSAGE EN GLUTATHION. — Ces auteurs ont utilisé une méthode personnelle de dosage, modification de celle de Tunnicliffe (118). Le principe en est l'oxydation par l'iode du glutathion en solution trichloracétique. Dans cette réaction qui aboutit au disulfure,



une molécule d'iode est nécessaire pour oxyder 2 molécules de glutathion,



L'extraction du glutathion est obtenue à l'aide d'une solution d'acide trichloracétique à 10 p. 100 et une solution d'iode centinormale est versée goutte à goutte dans cette extractum. Le terme de la réaction est observé par le nitro-prussiate de sodium, utilisé comme indicateur externe, puis par l'empois d'amidon, indicateur interne. En effet, les auteurs estiment, à juste titre, que les dérivés sulfhydrylés ne sont pas les seuls composés des tissus oxydables par l'iode et choisissent d'abord une réaction spécifique du groupement (-SH) dont la disparition indique l'oxydation complète de ces dérivés. Ensuite, l'empois d'amidon est ajouté et son virage nécessite l'addition d'une nouvelle quantité d'iode. Les deux chiffres n et n' ainsi obtenus permettent de calculer deux taux G et G' ; le premier seul indique la teneur réelle en dérivés sulfhydrylés du tissu, le second représente la totalité (calculée en glutathion) des composés tissulaires oxydables par l'iode. $G' - G$ donnera donc la quantité de ces composés non constitués par des dérivés (-SH).

MODE OPÉRATOIRE. — Une certaine quantité de tissu, variable suivant l'organe utilisé, est broyée au pulpo-broyeur, puis écrasée au mortier avec du sable, traitée par son poids d'acide trichloracétique à 10 p. 100 et la solution ainsi obtenue filtrée au Buchner. Ce traitement doit être répété quatre ou cinq fois pour que l'extraction des dérivés sulfhydrylés soit maxima (nous avons fait remarquer qu'elle ne pouvait être totale). C'est la totalité de la solution ainsi obtenue qui est additionnée de solution iodée à la burette jusqu'à ce que la réaction au nitroprussiate devienne négative, soit n le nombre de cm^3 versés, quelques gouttes d'empois sont ajoutées et

l'addition d'iode continuée jusqu'à bleuissement de la solution, soit *n'* la quantité totale utilisée.

RÉACTION AU NITROPRUSSATE. — Pour effectuer la première réaction colorée, Mme L. Randoin et R. Fabre obtiennent les résultats les plus satisfaisants en additionnant, dans un petit tube à essai, 0,3 cm³ de solution trichloracétique d'une goutte de solution de nitroprussiate de sodium à 5 p. 100 (préparée extemporanément) et en faisant arriver l'ammoniaque à la surface de ce mélange au moyen d'une pipette effilée. En présence de dérivés (-SH) il se développe à la surface de séparation des deux liquides un anneau violet. C'est la disparition de cet anneau qui marque la fin de l'oxydation du glutathion par l'iode.

CALCULS. — Mme L. Randoin et R. Fabre calculent la teneur en glutathion *dipeptide* : un cm³ de solution centinormale d'iode correspond à 2,5 mg. et les résultats sont exprimés en mg. de composé pour 100 g. de tissu. Il faut tenir compte dans ce calcul de l'erreur provenant de la limite de sensibilité de la méthode au nitroprussiate : un mg. pour 100 cm³ de solution. Ainsi, pour épuiser 39,60 g. de muscle pectoral de Pigeon les auteurs emploient 120 cm³ de solution trichloracétique ; le dosage iodométrique de la liqueur leur donne 11,75 mg., l'erreur 120/100, soit 1,20 mg. de glutathion pour 39 g. de tissu, ce qui donne 11,75 + 1,20 = 12,95 mg. pour 39,60 g. de tissu et

$$G = \frac{12,95 \times 100}{39,6} = 32,6 \text{ mg. pour 100 g.}$$

RÉSULTATS OBTENUS PAR MME L. RANDOIN ET R. FABRE.

« Chez le Pigeon privé de vitamine B, on ne constate aucun changement notable au début. Du dixième au quinzième jour de la maladie, lorsque s'établissent les paralysies et les troubles digestifs, lorsque la température centrale commence à baisser, il est à remarquer que le taux de glutathion diminue légèrement dans les muscles et dans le cœur... En examinant les moyennes et les chiffres extrêmes... on constate nettement, fait caractéristique, une importante diminution de la teneur en glutathion des muscles squelettiques et du muscle cardiaque lorsque les animaux commencent à présenter de graves symptômes. Dans les premiers muscles, à la période des crises, la baisse s'accroît. Les chiffres *G* et *G'* ne sont plus en moyenne que 10,8 et 29,2 pour les muscles pectoraux ; 17 et 43,8 pour les muscles des membres postérieurs. Dans le foie, on n'observe nullement ces effets ; au contraire, il y aurait plutôt une tendance à l'augmentation de la teneur en glutathion, mais les variations individuelles sont alors si considérables qu'il est impossible de conclure à ce sujet.»

Notons les moyennes des chiffres trouvés par ces auteurs chez le

Pigeon normal : pour les muscles squelettiques $G=26,51$ et $G'=43,44$; pour les muscles des membres postérieurs $G=33,65$ et $G'=59,80$.

La détermination des deux chiffres permet aux auteurs de calculer un coefficient $A = \frac{G'}{G}$, plus constant chez l'animal sain que G et G' eux-mêmes. L'augmentation considérable de ce coefficient dans les muscles squelettiques et cardiaque du Pigeon carencé en vitamine B, leur permet de conclure à une augmentation des substances réductibles autres que les dérivés sulphydrylés.

RÉSULTATS PERSONNELS.

Nous avons prévu dans notre plan de travail les déterminations simultanées de la teneur en glutathion et du pouvoir réducteur, malheureusement notre dosage ne nous a pas laissé suffisamment de tissu pour nous permettre de pratiquer de façon systématique et exacte le dosage du glutathion. Nous rassemblons cependant les quelques résultats obtenus (tableau 15) qui se trouvent toujours, pour chaque cas, entre les chiffres minima et maxima de Mme Randoïn et R. Fabre. Nous pensons d'ailleurs que les moyennes de ces auteurs pratiquées sur un grand nombre d'animaux peuvent servir beaucoup plus à notre documentation que les résultats peu nombreux de nos déterminations.

N° des expériences	Etat du Pigeon au moment de sa mort par section des carotides	Foie		Muscles pectoraux	
		G	G'	G	G'
1	Sain	184,00	231,50	21,90	38,10
2	—	162,50	250,00	28,00	40,32
3	—	160,40	279,10	23,95	39,20
1209	12 ^e jour de régime				
	12 P.	152,50	279,10	19,50	40,25
1215	12 ^e jour de régime				
	12 P.	166,70	214,70	22,30	42,05
1213	après de nombreuses crises	188,00	300,20	10,15	25,40

TABLEAU 15
Quantité de glutathion exprimée en mg. pour 100 gr. de tissu.

CHAPITRE X

VARIATIONS DU POUVOIR HYDROGENANT DES TISSUS DU PIGEON DANS L'INANITION ET DANS L'AVITAMINOSE B.

Nous employons exactement la méthode de dosage décrite au chapitre VII pour les déterminations effectuées sur les organes d'animaux sains. Chaque dosage est fait en double ou même en triple, si la différence entre les deux premiers dépasse 10 p. 100, soit 5 p. 100 avec la moyenne. Cette éventualité ne s'est d'ailleurs produite que très rarement. Les résultats sont exprimés, comme toujours, en mg. d'hydrogène sulfuré pour 100 g. de tissu.

INANITION. — Les dosages effectués sur trois Pigeons du premier lot, soumis à l'inanition complète avec eau à volonté, montrent une diminution considérable du pouvoir réducteur (tableau 16). La moyenne des chiffres dans le foie, de 43,35 pour les animaux sains, tombe à 18,18, et dans les muscles pectoraux de 7,54 à 2,58.

N° des expériences	SH ² en mg. pour 100 g.	
	Foie	Muscles pectoraux
1206	17,50	1,11
1207	24,56	4,39
1208	12,50	2,26
moyenne	18,18	2,58

TABLEAU 16
Pigeons soumis à l'inanition.

RIZ POLI. — Les Pigeons nourris de riz poli voient le pouvoir réducteur de leurs tissus diminuer également, mais dans de moins notables proportions (tableau 17). La moyenne dans le foie est de 33,36 après 12 jours de régime, et de 35,47 pendant les crises, dans les muscles pectoraux respectivement de 5,44 et de 6,03. Nous constatons donc un léger relèvement au moment des crises, mais nous n'y attachons pas une importance exagérée, cette élévation étant plus faible que les variations individuelles constatées chez les animaux sains et le nombre des expériences étant insuffisant pour établir une moyenne très exacte.

RÉGIME ARTIFICIEL 12 P. — Le régime privé de vitamine B détermine chez les Pigeons une diminution du pouvoir réducteur à peu près du même ordre que le riz poli. Dans le foie, la différence avec

Conditions et numéros des expériences	SH ² en mg. p. 100 g.	
	Foie	Muscles pectoraux
Après 12 jours de régime 1196.....	43,23	4,49
— — — 1197.....	36,21	5,60
— — — 1198.....	22,65	6,22
— — — moyenne	33,36	5,44
Pendant les crises 1199.....	35,87	4,61
— — — 1200.....	39,60	6,65
— — — 1202.....	23,20	7,28
— — — 1204.....	43,23	5,58
— — — moyenne.....	35,47	6,03

TABLEAU 17
Pigeons nourris au riz poli.

la normale peu marquée après 12 jours — 40,99 au lieu de 43,35 — devient plus importante au début des crises — 37,57 — et plus notable encore — 31,26 — à la fin des crises. Dans le muscle, il y a, comme pour les Pigeons nourris de riz poli, une diminution plus notable au début — 4,46 au lieu de 7,54 — que pendant les crises — 6,22 — et à la fin — 6,33 (tableau 18).

Conditions et numéros des expériences	SH ² en mg. p. 100 g.	
	Foie	Muscles pectoraux
Après 12 jours de régime 1209.....	39,33	4,05
— — — 1215.....	39,33	4,18
— — — 1216.....	44,30	5,63
— — — moyenne	40,99	4,46
Début des crises 1211.....	41,50	6,33
— — — 1212.....	32,80	5,46
— — — 1214.....	38,40	6,87
— — — moyenne.....	37,57	6,22
Fin des crises 1213.....	30,26	7,19
— — — 1221.....	30,65	6,20
— — — 1222.....	31,73	6,10
— — — 1224.....	32,40	7,05
— — — moyenne.....	31,26	6,63

TABLEAU 18
Pigeons gavés avec le régime 12 P.

CHAPITRE XI

PHILOTHION ET GLUTATHION DANS L'INANITION ET L'AVITAMINOSE B.

Le tableau 19 a été établi afin de faciliter la comparaison entre les moyennes des quantités d'hydrogène sulfuré produites par les tissus des Pigeons : 1°) normaux, 2°) au jeûne complet, 3°) nourris de riz à volonté, et 4°) gavés avec la ration 12 P. Nous avons joint à ces moyennes celles obtenues par Mme L. Randoïn et R. Fabre (64) pour le dosage du glutathion dans les mêmes conditions expérimentales.

Conditions expérimentales	SH ² en mg. p. 100 g.		Glutathion en mg. p. 100 g. (Moyennes obtenues par Mme L. Randoïn et R. Fabre)	
	Foie	Muscles pectoraux	Foie	Muscles pectoraux
Animaux sains	43,35	7,54	178,52	26,51
Inanition	18,48	2,58	152,50	16,24
Riz : après 12 jours de régime	33,36	5,44		
pendant les crises	35,47	6,03		
Régime 12 P : après 12 jours de régime	40,99	4,46	197,05	21,73
début des crises..	37,57	6,22	209,50	17,60
fin des crises....	31,26	6,63	191,85	10,88

TABLEAU 19

Moyennes de nos résultats et comparaison avec le taux de glutathion
d'après Mme L. Randoïn et R. Fabre.

A. — Inanition.

La baisse de la production d'hydrogène sulfuré par les tissus des Pigeons soumis au jeûne est très importante — diminution de 57 p. 100 dans le foie, et de 65,7 p. 100 dans les muscles pectoraux — et ne peut s'expliquer par une baisse correspondante du glutathion qui est seulement de 14,5 p. 100 dans le foie et 38,7 p. 100 dans les muscles pectoraux (d'après les moyennes obtenues par Mme L. Randoïn et R. Fabre (64). Ce fait ne doit pas surprendre, car il est logique de penser que le Pigeon épuise non seulement ses réserves hydrocarbonées et grasses, mais aussi ses réserves protéiques, et parmi celles-ci, son philothion. Il est curieux de ne constater parallèlement qu'une diminution peu importante du glutathion.

B. — Avitaminose B.

1°) *Par le Régime artificiel.* — La production d'hydrogène sulfuré, dans le foie, marque une diminution sur la normale de 47 p. 100 au début de la maladie, 12,7 p. 100 après la première crise, et 17,4 p. 100 à la fin des crises. Le glutathion (toujours d'après les moyennes de Mme L. Randoïn et R. Fabre), présente pendant ce temps une légère tendance à l'augmentation. Il y a donc là encore une diminution du philothion. Dans les muscles pectoraux, les diminutions de la production d'hydrogène sulfuré atteignent 40,9 p. 100 au début de la maladie, 17,6 p. 100 après la première crise, et 12,1 p. 100 après plusieurs crises, et ne correspondent pas à celles du glutathion qui sont, pour les mêmes stades de la maladie, de 18, -33,6 et 59 p. 100. Dans ce tissu la baisse du philothion est donc, à l'inverse de celle du glutathion, plus importante au début qu'à la fin de la maladie.

2°) *Par le Riz poli.* — Les diminutions du pouvoir hydrogénant sont à peu près du même ordre que celles observées chez les Pigeons gavés avec le régime artificiel et atteignent, pour le foie, 22,5 p. 100 au début, 17,5 p. 100 après la première crise et, pour les muscles pectoraux, 27,9 et 20 p. 100. Mais, le riz provoquant chez les animaux une avitaminose plus ou moins compliquée d'inanition partielle, les résultats sont moins caractéristiques que ceux obtenus avec le régime artificiel.

Pour expliquer les divergences entre les chiffres de glutathion et de philothion, nous ne devons pas perdre de vue l'hypothèse formulée par de Rey-Pailhade et confirmée par R. Fabre et H. Simonnet (27, 28 et 29). Le glutathion, dérivé sulfhydrylé soluble, proviendrait du clivage de la grosse molécule du philothion, dérivé sulfhydrylé insoluble, dont la synthèse serait faite par les cellules.

Dans le foie des Pigeons carencés en facteur B, il y aurait bien, comme chez l'animal sain, une usure du glutathion, et le philothion remplacerait constamment cette dépense de l'organisme ; mais la très mauvaise assimilation des aliments ne permettrait pas au foie de maintenir sa réserve en philothion, d'où la diminution observée.

A l'apparition des accidents nerveux et paralysants, le muscle deviendrait incapable de transformer en glutathion son philothion dont la synthèse continuerait à se faire au ralenti. C'est pourquoi on observe une diminution beaucoup plus importante du glutathion que du philothion.

CONCLUSIONS

Nous nous sommes proposé, dans ce travail, d'établir une méthode d'absorption et de dosage de l'acide sulfhydrique produit par l'action réductrice des tissus sur le soufre et d'apporter notre contribution à l'étude du mécanisme de cette réaction. Nous recherchons ensuite quelle perturbation peut apporter, dans cette propriété des tissus, une maladie à métabolisme abaissé : l'avitaminose B.

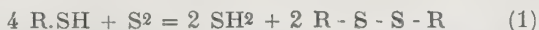
La méthode de dosage employée permet d'obtenir des chiffres comparables entre eux et proportionnels au poids de tissu mis en œuvre. La différence entre les résultats de deux expériences identiques est presque toujours inférieure à 5 p. 100 et n'atteint que très rarement 10 p. 100. La technique utilisée ne demande qu'une heure, ce qui présente l'avantage de permettre les dosages en série et de supprimer les erreurs par perte de SH^2 . Nous opérons dans le vide, car en l'absence de l'air, l'absorption de SH^2 est plus facile, son extraction plus complète et sa production plus importante.

La température — 38° , — la nature et la quantité de soufre, la division du tissu, l'addition d'eau ou de sérum physiologique, le pH sont soigneusement choisis pour réaliser des circonstances proches des conditions de la vie et pour obtenir la plus grande quantité possible de SH^2 .

Mécanisme de la Réaction.

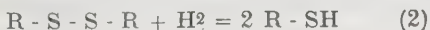
L'emploi de cette méthode de dosage nous permet d'étudier le mécanisme du phénomène et d'arriver, avec la plupart des auteurs, à la conclusion qu'il s'agit d'une réaction réversible en deux temps :

1^{er} TEMPS : *Action du philothion et du glutathion sur le soufre.* — Nous observons, sous l'action de l'acide monoiodacétique, la disparition complète du dégagement de l'hydrogène sulfuré. Le phénomène est donc dû à la réaction :



dans laquelle, ainsi que tous les auteurs l'ont affirmé, les diastases n'interviennent nullement.

2^e TEMPS : *Réduction du disulfure formé.* — En comparant les quantités d'acide sulfhydrique obtenues et la teneur habituelle des tissus en glutathion, suivant les moyennes données par de nombreux auteurs, il est facile de constater une production d'hydrogène sulfuré bien supérieure à celle prévue par la réaction (1). Ceci est dû à deux causes : la présence dans les tissus d'un dérivé sulfhydrylé insoluble, la régénération des dérivés sulfhydrylés par réduction des disulfures suivant la réaction :



En présence du soufre la réaction (1) se reproduit alors prolongeant le dégagement d'hydrogène sulfuré pendant un temps qui dépasse quarante huit heures. Nous montrons que l'hydrogène nécessaire à cette réduction des disulfures est fourni soit par certains « donateurs d'hydrogène » (selon l'expression de E. Sluiter), soit probablement aussi par la décomposition catalytique de l'eau.

a) *Donateurs d'hydrogène.* — Nous constatons, comme E. Sluiter, une augmentation de la production de l'hydrogène sulfuré par addition d'acide citrique au tissu. Cependant, même en présence de ce corps, tout dégagement d'hydrogène sulfuré cesse dans un milieu où les groupements sulphydrylés sont bloqués par l'acide monoiodacétique. Par conséquent, le donateur d'hydrogène est incapable d'hydrogéner directement le soufre et agit seulement en réduisant les disulfures pour régénérer les dérivés sulphydrylés.

b) *Décomposition catalytique de l'eau.* — La production de l'hydrogène sulfuré est diminuée sous l'action du fluorure de sodium, de l'oxalate de potassium, du toluène et du chauffage préalable du tissu à 65-70°. Cette action inhibitrice, faible pendant la première heure, augmente rapidement avec le temps. Ceci nous permet d'expliquer les résultats de E. Sluiter qui, opérant toujours en présence de toluène, note un dégagement gazeux assez court et ne peut entrevoir d'action diastasique. D'autre part, l'action inhibitrice des antiseptiques n'atteint que partiellement la production, d'ailleurs négligeable, d'hydrogène sulfuré par les tissus non additionnés de soufre.

Il est donc logique de supposer que les antiseptiques agissent comme inhibiteurs d'oxydation, en suspendant l'action des diastases qui contribuent à la régénération des groupements sulphydrylés. Ces diastases, dont le rôle n'avait pas été soupçonné jusqu'ici dans ce phénomène, provoquent vraisemblablement la décomposition catalytique de l'eau : l'oxygène est utilisé pour les oxydations tissulaires et l'hydrogène se fixe sur les disulfures en régénérant les dérivés sulphydrylés.

Résultats de la Méthode de Dosage proposée.

Le dosage de l'hydrogène sulfuré produit par les tissus au contact du soufre nous permet d'évaluer, tenant compte de la parenté du soufre et de l'oxygène, l'affinité des tissus pour ce dernier. La mesure ainsi effectuée est plus complète que le simple dosage du glutathion pour les deux raisons exposées plus haut.

Les résultats de dosages faits sur les tissus de quelques animaux sains montrent une production d'hydrogène sulfuré beaucoup plus importante dans les organes des petits animaux (Pigeon, Lapin) à métabolisme élevé que dans ceux des gros animaux (Bœuf, Chien) à métabolisme beaucoup moins intense. Ce fait constitue, nous semble-t-il, un argument de plus en faveur de la similitude d'action du soufre

et de l'oxygène et nous permet d'entrevoir la possibilité d'évaluer d'une façon très simple et très rapide l'activité du métabolisme dans un tissu.

Variations dans l'Inanition.

Dans l'inanition, notre méthode de dosage nous permet de constater une diminution importante du pouvoir réducteur, en relation sans doute avec la baisse de température. Cette diminution étant bien supérieure à celle du glutathion, nous pensons que la réserve protéique est touchée aussi bien que les réserves hydrocarbonées et grasses et que le taux du philothion, protéine à groupements sulphydrilés, a diminué considérablement.

Variations dans l'Avitaminose B.

Nous appliquons également notre méthode de dosage à l'étude de l'avitaminose B, maladie dans laquelle les réactions d'oxydation sont moins intenses que chez l'animal sain. Les dosages effectués sur le Pigeon, à différents stades de la maladie, ont indiqué une diminution très notable de la production d'hydrogène sulfuré dans le foie et les muscles pectoraux.

1°) Dans le foie, la teneur en glutathion restant à peu près la même, il faut rechercher la cause de cette diminution dans l'épuisement de la réserve de philothion dont la synthèse par l'organisme serait insuffisante par suite de l'avitaminose.

2°) Dans le muscle, la baisse du glutathion va en croissant jusqu'à la fin et se trouve plus importante que celle du philothion dont nous observons le taux minimum avant les crises de polynévrite. Il semble donc que ces crises provoquent de profondes perturbations dans le chimisme intime des cellules et que la formation de glutathion aux dépens du philothion ne peut se faire que difficilement.

Ces déterminations permettent d'étudier d'une manière plus approfondie que par le simple dosage du glutathion les troubles du métabolisme constatés dans l'avitaminose B. Toutefois, nous devons reconnaître qu'elles ne suffisent pas à déceler l'origine des accidents graves qui caractérisent cette maladie.



Vu, bon à imprimer :
Le Président de Thèse,
R. FABRE.

Vu :
Le Doyen de la Faculté,
PAUL GUERIN.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 ABDERHALDEN (E.) et WERTHEIMER (E.). — Studien über Autoxydation II (Mitterlung) — Versuche über die Umwandlung von Cystein in Cystin unter verschiedenen Bedingungen. (*Pflüger's Arch.*, 1923, **198**, 122).
- 2 ABDERHALDEN (E.) et WERTHEIMER (E.). — Weitere Studien über Autoxydation IV. (*Pflüger's Arch.*, 1923, **199**, 336).
- 3 ABELOUS (J.-E.) et ALOY (J.). — Sur quelques conditions de l'oxydation de l'aldéhyde salicylique par les organes et extraits d'organes. (*C. R. Ac. Sc.*, 1903, **136**, 1573).
- 4 ABELOUS (J.-E.) et ALOY (J.). — Sur l'existence, dans l'organisme animal, d'une diastase à la fois oxydante et réductrice. (*C. R. Ac. Sc.*, 1903, **137**, 885).
- 5 ABELOUS (J.-E.) et GERARD (E.). — Sur la présence, dans l'organisme animal, d'un ferment soluble réduisant les nitrates. (*C. R. Ac. Sc.*, 1899, **129**, 56 et 164).
- 6 ABELOUS (J.-E.) et RIBAUT (H.). — Sur la production d'hydrogène sulfuré par les extraits d'organes et les matières albuminoïdes en général. (*C. R. Ac. Sc.*, 1903, **137**, 95).
- 7 ABELOUS (J.-E.) et RIBAUT (H.). — Influence de la température sur la production d'hydrogène sulfuré par les matières albuminoïdes, les extraits animaux et les extraits de levure de bière, en présence de soufre. (*C. R. Ac. Sc.*, 1903, **137**, 268).
- 8 ABELOUS (J.-E.) et RIBAUT (H.). — Sur la non existence du philothion, prétendue diastase hydrogénant le soufre. (*Bull. Soc. Ch.*, 1904, **31**, 698).
- 9 ACHARD (Ch.), LEVY (Mlle J.) et GUTHMANN (G.). — Contribution à l'étude de la glutathionémie à l'état normal et dans divers états pathologiques. (*Bull. Ac. Méd.*, 1932, **107**, n° 16).
- 10 ANDERSON (R.-J.) et KULP (W.-L.). — A study of the métabolism and respiratory exchange in poultry during vitamine starvation and polyneuritis. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1922, **52**, 69).
- 11 AUBEL (E.), KHOUVINE (Y.) et ARRAGON (G.). — Sur le mécanisme de la transformation de l'acide pyruvique en acide lactique dans le foie. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1923, **15**, 1070).
- 12 BENEDICT (S.-R.) et NEWTON (E.-B.). — The use of molybdic acid as a precipitant for blood protein. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1929, **82**, 5).
- 13 BERL (E.) et PFANNMUELLER (W.). — Zur Jodometrischen Bestimmung des Schwefelnatriums. (*Chemiker-Zeitung*, 1924, **48**, 115).
- 14 BICKEL (A.). — Das wesen der Avitaminose nach experimentellen untersuchungen über die Abmagerungs form dieser Krankheit. (*Biochem. Ztschr.*, 1924, **146**, 493).
Weitere Untersuchungen über den Stoffwechsel bei der Avitaminose. (*Biochem. Ztschr.*, 1925, **166**, 251).
- 15 BLANCHETIERE (A.), BINET (L.) et MELON (L.). — Les catalyseurs cellulaires thermostables. — Les catalyseurs sulfurés et en particulier le glutathion. (*Journ. Physiol et Path. Gén.*, 1929, **27**, 1 et 18).
- 16 BRAND et SANDBERG (M.). — The lability of the sulfur in cystine derivatives and its possible bearing on the constitution of insulin. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1926, **70**, 381).

- 17 BRUNCK, cité d'après TREADWELL (116).
- 18 BUFFA (E.). — Sur une combinaison sulfurée des tissus animaux. *Journ. Physiol. et Path. Gén.*, 1904, **6**, 645).
- 19 CHAHOVITCH (X.). — Le quotient métabolique dans l'avitaminose B. (*C. R. Soc. Biol.*, 1926, **94**, 227).
- 20 DELORE (P.). — Glutathion réduit des organes de Cobaye tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1927, **96**, 974).
- 21 DELORE (P.). — Recherches sur la teneur en glutathion réduit des tissus animaux au cours de la tuberculose et de diverses intoxications. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1927, **9**, 1070).
- 22 DENIGES. — *Précis de Chimie Analytique* (2 vol.), 6^e édition, N. Maloine, Paris, 1931, 1 p. 739 et 743, 11 p. 35 et 36.
- 23 DIXON (M.) et TUNNICLIFFE (H.-E.). — The oxidation of reduced glutathione and other sulfhydryl compounds. (*Proc. of the Roy. Soc. (Ser. B)*, 1923, **94**, 266).
- 24 DIXON (M.) et TUNNICLIFFE (H.-E.). — On the reducing power of glutathione and cystein. (*Biochem. Journ.*, 1927, **21**, 844).
- 25 EVANS (H.-M.) et LEPKOWSKI (S.). — On some relations of vitamin B to fat and carbohydrate metabolism. (*Communication au XIII^e Congrès International de Physiologie. Boston 1929*).
- 26 FABRE (R.). — Le glutathion. (*Journ. Pharm. et Chim.*, 1927, **5**, 219 et 245).
- 27 FABRE (R.) et SIMONNET (H.). — Contribution à l'étude du pouvoir oxydo-réducteur des tissus :
 - I Recherches sur le foie perfusé. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, **12**, 777).
 - II Recherches sur la pulpe de foie. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, **12**, 800).
 - III Discussion générale des résultats. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, **12**, 810).
 - IV Recherches sur la levure de bière. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1931, **13**, 923).
- 28 FABRE (R.) et SIMONNET (H.). — Contribution à l'étude physiologique du glutathion par la méthode des perfusions. (*Journ. Pharm. et Chim.*, 1928, **7**, 447).
- 29 FABRE (R.) et SIMONNET (H.). — Contribution à l'étude du pouvoir oxydo-réducteur des tissus :
 - I Introduction, nature des questions posées. (*Journ. Pharm. et Chim.*, 1930, **12**, 97).
 - II Recherches sur le foie perfusé. (*Journ. Pharm. Chim.*, 1930, **12**, 193).
 - III Recherches sur la pulpe de foie. (*Journ. Pharm. Chim.*, 1930, **12**, 253).
 - IV Recherches sur la levure de bière. (*Journ. Pharm. Chim.*, 1931, **14**, 418 et 465).
- 30 FARMER (C.-J.) et REDENBAUGH (H.-E.). — A study of heat production in pigeons on diets déficient in vitamin B. (*Amer. Journ. Physiol.*, 1925, **75**, 27).
The decrease in digestive efficiency in polyneuritis columbarum. (*Amer. Journ. Physiol.*, 1925, **75**, 45).
- 31 FERREIRA DE MIRA (fils). — Pouvoir réducteur des tissus de cobaye tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, **98**, 1611).

- 32 HARRIS (L.-J.). — Determination of Amino and Carboxyl Groups and of the Minimal Molecular Weight, by the Acidimetric Titration Technique. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1929, **84**, 296).
- 33 HEFFTER. — Die reduzierenden Bestandteile der Zellen. (*Med. Naturwiss. Archiv.*, 1908, **1**, 81).
- 34 HEFFTER et HAUSMANN. — Ueber die Wirkung des Schwefels auf Eiweisskörper. (*Hofm. Beitr. z. Chemisch. Physiol. u. Pathol.*, 1904, **5**, 213).
- 35 HOPKINS (F.-G.). — On an autoxidisable constituent of the cell. (*Biochem. Journ.*, 1921, **15**, 286).
- 36 HOPKINS (F.-G.). — On the isolation of Glutathione. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1927, **72**, 185).
- 37 HOPKINS (F.-G.). — On Glutathione : a reinvestigation. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1929, **84**, 269).
- 38 HOPKINS (F.-G.). — Glutathione, its influence in the oxidation of fats and proteins. (*Biochem. Journ.*, 1925, **19**, 787).
- 39 HOPKINS (F.-G.). — Les Mécanismes de l'oxydation dans l'organisme vivant. (Conférence du 29 Juin 1923 à la 4^e Conférence Internationale de Chimie pure et appliquée. Traduction in *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1923, **5**, 761).
- 40 HOPKINS (F.-G.) et DIXON (M.-J.). — On Glutathione. — A thermostable oxidation-réduction system. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1922, **54**, 527).
- 41 HUNTER (G.) et EAGLES (B.-A.). — Non-protein sulfur compounds of Blood. II Glutathione. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1927, **72**, 133).
- 42 JOHNSON (J.-M.) et VOETGLIN (C.). — On the preparation and properties of pure Glutathione (Glutaminyl-Cystéine). (*Journ. of Biol. Chem.*, 1927, **75**, 703).
- 43 KAPP (M.). — Oxydation du sulfure de sodium en solution (*Th. doct. ès sc. Lyon* 1932).
- 44 KENDALL (E.-C.), MAC KENZIE (B.-F.) et MASON (H.-L.). — A study of Glutathione. Its preparation in crystalline form and its identification. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1924, **84**, 657).
- 45 KENDALL (E.-C.), MASON (H.-L.) et MAC KENZIE (B.-F.). — A study of Glutathione. Determination of the structure of Glutathione. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1930, **88**, 409).
- 46 KENDALL (E.-C.) et NORD (E.-F.). — Reversible oxidation-reduction of Cystéine-cystine and reduced and oxidized Glutathione. (*Journ. of Biol. Chem.* 1926, **69**, 295).
- 47 KINNERSLEY (H.-W.) et PETERS (R.-A.). — Observations upon carbohydrate metabolism in birds. I The relation between the lactic acid content of the brain and the symptoms of opisthotonus in rice-fed pigeons. (*Biochem. Journ.* 1929, **23**, 1126).
 II. Brain localisation of lactic acidosis in avitaminosis B, and its relation to the origin of symptoms. (*Biochem. Journ.* 1930, **24**, 711).
- 48 KON (S.-K.). — On the carbon : nitrogen ratio (C/N) in the urine of rats deprived of one or both factors of the vitamin B complex. (*Journ. of Nutrition*, 1929, **1**, 466).
- 49 LIPSCHITZ, cité par HOUSSAY et P. MAZZOCO. — Le Glutathion et les propriétés réductrices des tissus des Rats décapsulés. (*C. R. Soc. Biol.*, 1927, **97**, 417).
- 50 LUNGE-BERL, cité par le Laboratoire de la Norddeutschen Chemischen Fabrik de Harburg. (58).

- 51 MAGNE (H.) et SIMONNET (H.). — Sur les variations du quotient respiratoire chez le Pigeon carencé. Influence des injections intraveineuses de glucose. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1922, **4**, 419).
- 52 MATHEWS (A.-P.) et WALKER (S.). — The spontaneous oxidation of cystein. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1909, **6**, 21).
- 53 MELDRUM (U.) et DIXON (M.). — The properties of pure Glutathione. (*Biochem. Journ.* 1930, **24**, 472).
- 54 MEYERHOF (O.). — Ueber ein neues autoxydables system der Zell. (Die rolle der Sulphydrilgruppe als Sauerstoffüberträger (*Pfluger's Arch.*, 1923, **199**, 531).
- 55 MOREL (A.) et DELORE (P.). — Glutathion réduit dans les organes cadavériques. Auto-oxydation et inhibition par frigorification. (*C. R. Soc. Biol.*, 1927, **96**, 975).
- 56 MORNER. — (*Ztschr. für physiol. Chem.*, 1901, **34**, 207). Cité par Heffter et Hausmann (34).
- 57 NICOLET (B.-H.). — The structure of Glutathione. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1930, **88**, 389).
- 58 NORDDEUTSCHEN CHEMISCHEN FABRIK DE HARBURG Laboratoire de la). — Ueber vergleichende Versuche zur titrimetrischen Bestimmung von Schwefelnatrium. (*Chemiker-Zeitung*, 1923, **47**, 752).
- 59 OHLSON (E.). — Die Abhängigkeit der Wirkung der Succino-dehydrogenase von der Wasserstoffionen konzentration. (*Skand. Archiv. f. physiol.*, 1921, **41**, 77).
- 60 PECKER (H.). — Sur l'altération du monosulfure de sodium cristallisé. (*Journ. Pharm. et Chim.*, 1930, **11**, 147).
- 61 PIRIE (N.-W.) et PINHEY (K.-G.). — The titration curve of Glutathione. (*Jour. of Biol. Chem.*, 1929, **84**, 321).
- 62 POZZI-ESCOT (M.-E.). — Sur le philothion et la production de H₂S par les extraits d'organes et les matières albuminoïdes en général. (*Bull. Soc. Chim.*, 1903, **29**, 1232).
- 63 QUASTEL (J.-H.), STEWART (C.-P.) et TUNNICLIFFE (H.-E.). — On Glutathione IV. Constitution. (*Biochem. Journ.*, 1923, **17**, 586).
- 64 RANDOIN (Mme L.) et FABRE (R.). — Glutathion et avitaminose B chez le Pigeon. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1927, **9**, 1027).
- 65 RANDOIN (Mme L.) et FABRE (R.). — Recherches comparatives sur la teneur en glutathion de quelques tissus et du sang chez le Pigeon normal, chez le Pigeon sous-alimenté et chez le Pigeon privé de vitamines B. (*C. R. Ac. Sc.*, 1927, **185**, 151).
- 66 RANDOIN (Mme L.) et FABRE (R.). — Recherches comparatives sur la teneur en dérivés sulphydrylés des muscles striés, du foie et du sang chez le Rat normal, chez le Rat sous-alimenté et chez le Rat privé de Vitamines B. (*C. R. Ac. Sc.*, 1931, **192**, 815).
- 67 RANDOIN (Mme L.) et LECOQ (R.). — L'évolution de l'avitaminose B dans ses rapports avec la constitution des glucides du régime. (*C. R. Ac. Sc.*, 1927, **184**, 1347).
- 68 RANDOIN (Mme L.) et LECOQ (R.). — Inégalité de la teneur en vitamines hydro-solubles (B) d'extraits de levure d'origine différente. (*C. R. Ac. Sc.*, 1926, **182**, 1408).
- 69 RANDOIN (Mme L.) et LECOQ (R.). — Les extraits de levure envisagés comme sources de vitamines hydro-solubles B ont-ils tous la même valeur biologique. (*Bull. Soc. Thérap.*, 1926, **31**, 197).
- 70 RANDOIN (Mme L.) et LELESZ (E.). — Avitaminose B, glycémie et réserves glycogéniques. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, **8**, 15).

- 71 RANDOIN (Mme L.) et SIMONNET (H.). — Influence de la nature et de la quantité de glucides présents dans une ration privée de facteurs B sur la précocité de l'apparition des accidents de la polynévrite aviaire. (*C. R. Ac. Sc.*, 1923, **177**, 903).
- 72 RANDOIN (Mme L.) et SIMONNET (H.). — Le problème alimentaire envisagé au point de vue des rapports existant entre les substances élémentaires fondamentales et les substances énergétiques. (*C. R. Ac.*, 1924, **178**, 963).
- 72 RANDOIN (Mme L.) et SIMONNET (H.). — Equilibre alimentaire, isodynamie et substances élémentaires fondamentales. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1924, **6**, 601).
- 73 RANDOIN (Mme L.) et SIMONNET (H.). — Recherches expérimentales relatives au mécanisme de la production des troubles caractérisant une maladie par déséquilibre alimentaire : la polynévrite aviaire. (*Bull. Soc. Hyg. Aliment.*, 1924, **12**, 86).
- 74 RANDOIN (Mme L.) et SIMONNET (H.). — Sur l'équilibre alimentaire. Entretien du Pigeon au moyen d'un régime totalement privé de facteur hydro-soluble B. Croissance et entretien du Rat soumis à un régime artificiel privé à la fois de facteur B et de glucides. (*C. R. Ac. Sc.*, 1924, **179**, 700 et 1219).
- 75 RAPKINE (L.). — Sur l'action de l'acide monoiodacétique sur le glutathion et la cystéine. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, **112**, 790).
- 76 READER (V.). — Further evidence for a third accessory « B » factor. (*Biochem. Journ.*, 1930, **24**, 77 et 1827).
- 77 REGNIER (Mlle M. Th.). — Préparation du glutathion. (*Journ. Pharm. et Chim.*, 1933, **18**, 369).
- 78 REGNIER (Mlle M. Th.). — Contribution à l'étude du glutathion. (*Th. pharmacien supérieur*, Paris 1934).
- 79 REY-PAILHADE (J. de). — Sur un corps d'origine organique hydrogénant le soufre à froid. (*C. R. Ac. Sc.*, 1888, **106**, 1683).
- 80 REY-PAILHADE (J. de). — Nouvelles recherches physiologiques sur la substance organique hydrogénant le soufre à froid (*C. R. Ac. Sc.*, 1888, **107**, 43).
- 81 REY-PAILHADE (J. de). — Recherches expérimentales sur le degré d'affinités de divers tissus sur le soufre. (*C. R. Ac. Sc.*, 1889, **108**, 356).
- 82 REY-PAILHADE (J. de). — Sur de nouvelles propriétés chimiques de l'extrait alcoolique de levure de bière. (*Bull. Soc. Chim.*, 1890, **3**, 171).
- 83 REY-PAILHADE (J. de). — Constitution et origine anaérobie du Philothion, principe immédiat organique. (*C. R. Soc. Biol.*, 1894, **46**, 455).
- 84 REY-PAILHADE (J. de). — Etudes sur les propriétés chimiques de l'extrait alcoolique de levure : formation d'acide carbonique et absorption d'oxygène. (*C. R. Ac. Sc.*, 1894, **118**, 201).
- 85 REY-PAILHADE (J. de). — Rôles respectifs du philothion et de la laccase dans les graines en germination. (*C. R. Ac. Sc.*, 1895, **121**, 1162).
- 86 REY-PAILHADE (J. de). — Fermentation chimique par la levure de bière en milieu antiseptique. (*Bull. Soc. Chim.*, 1900, **23**, 666).
- 87 REY-PAILHADE (J. de). — Action du soufre sur les matières albuminoïdes. (*Bull. Soc. Chim.*, 1904, **31**, 708).
- 88 REY-PAILHADE (J. de). — Nouvelles recherches sur le philothion. (*Bull. Soc. Chim.*, 1904, **31**, 987).
- 89 REY-PAILHADE (J. de). — Recherches sur l'hydrogène philothionique. (*Bull. Soc. Chim.*, 1905, **33**, 743 et 850).

- 90 REY-PAILHADE (J. de). — Propriétés de l'albumen de poule. (*Bull. Soc. Chim.*, 1905, **33**, 184).
- 91 REY-PAILHADE (J. de). — Caractères chimiques distinctifs entre la serumalbumine et la myoalbumine par l'hydrogène philothionique. (*Bull. Soc. Chim.*, 1906, **35**, 1030).
- 92 REY-PAILHADE (J. de). — Sur l'hydrogène philothionique. (*Bull. Soc. Chim.*, 1906, **35**, 1031).
- 93 REY-PAILHADE (J. de). — Le problème de l'oxydation de la matière vivante. Rôle de l'Hydrure d'albumine ou philothion. (*Rapport sur le congrès international de Physiol. de Heidelberg*. Toulouse. Lagarde et Sebillé, édit. 1907).
- 94 REY-PAILHADE (J. de). — Oxydation de l'hydrogène philothionique par les oxydases. (*Bull. Soc. Chim.*, 1907, **1**, 165).
- 95 REY-PAILHADE (J. de). — Le rôle diastasique du philothion vis-à-vis de l'oxygène. (*Bull. Soc. Chim.*, 1908, **3**, 159).
- 96 REY-PAILHADE (J. de). — Sur l'existence du philothion dans le cristallin des yeux des animaux. (*C. R. Ac. Sc.*, 1915, **160**, 37).
- 97 REY-PAILHADE (J. de). — Différence entre le Glutathion (dipeptide découvert par Hopkins) et le Philothion. (*Bull. Soc. Chim.*, 1923, **33**, 167).
- 98 REY-PAILHADE (J. de). — Rôle du philothion dans l'oxydation tissulaire. (*Bull. Soc. Chim.*, 1923, **33**, 437).
- 99 REY-PAILHADE (J. de). — Sur l'existence d'un philothion α et d'un philothion β . (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, **8**, 518).
- 100 REY-PAILHADE (J. de). — Sur le Philothéion-Glutathéion et sur le Philothion-Glutathion. (*Bull. Soc. Thérap.*, 1928, **23**, 266).
- 101 REY-PAILHADE (J. de). — Sur quelques propriétés du Philothion. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1929, **11**, 308).
- 102 ROCHE (J.). — Recherches sur le syndrome urinaire des troubles métaboliques provoqués par la carence en facteurs B chez le Rat. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, **12**, 342).
- 103 ROCHE (J.). — Sur l'accumulation dans le sang de corps ternaires au cours de l'avitaminose B. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1931, **13**, 186).
- 104 RÖSING. — Untersuchungen über die oxydation von Eiweiss in Gegenwart von Schwefel. (*Thèse Rostock* 1891), cité par HEFFTER et HAUSMANN, (34).
- 105 SHINODA (G.). — Studien über intermediären Kohlenhydratumsatz im Hunger und Avitaminose. (*Bioch. Ztschr.*, 1924, **149**, 1).
- 106 SLUITER (E.). — The production of hydrogen sulphide by animal tissues (*Biochem. Journ.*, 1930, **24**, 549).
- 107 SORENSEIM et HANSEN. — Lettre inédite à de Rey-Pailhade du 30 mars 1925, cité par ce dernier. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, **8**, 518).
- 108 STEWART (C.-D.) et TUNNICLIFFE (H.-E.). — Glutathione. Syntheses. (*Biochem. Journ.*, 1925, **19**, 207).
- 109 STRASSNER (W.). — Die reduzierten Wirkungen des Gewebes. (*Biochem. Ztschr.*, 1910, **29**, 295).
- 110 STROMEYER. — (*Ann. Chem. Phys. Liebig*, 1858, **107**, 367), cité d'après H. Moissan, *traité de chimie minérale t. III*. Masson édit. Paris 1904.
- 111 SURE (B.) et SMITH (E.-M.). — The effect of vitamin deficiency on carbohydrate metabolism. II. The effect of uncomplicated vitamin B deficiency on concentration on true sugar, reducing non sugar and alkali reserve in the blood of the albino Rat. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1929, **84**, 727).

- 112 TERROINE (E.-F.) et BARTHELEMY (B.). — Avitaminose et inanition. (*Arch. Intern. Physiol.*, 1922, **20**, 62).
- 113 THUNBERG (T.). — Zur Kenntnis der Einwirkung tierischer Gewebe auf Methylenblau. (*Skand. Arch. f. Physiol.*, 1918, **25**, 162).
- 114 THUNBERG (T.). — Zur Kenntnis des intermediären Stoffwechsels und der dabei wirksamen Enzyme. (*Skand. Arch. f. Physiol.*, 1920, **40**, 1).
- 115 THURLOW (S.). — Studies on xanthine oxidase. IV. Relation of xanthine oxidase and similar oxidising systems to Bach's oxigenase. (*Biochem. Journ.*, 1925, **19**, 175).
- 116 TREADWELL. — *Manuel de chimie analytique. t. II.* Analyse quantitative. Dunod 1932, p. 634 et 638.
- 117 TUNNICLIFFE (H.-E.). — Glutathione. Relations between the tissues and the oxidised dipeptide. (*Biochem. Journ.*, 1925, **19**, 199).
- 118 TUNNICLIFFE (H.-E.). — The occurrence and quantitative estimation of Glutathione in tissues. (*Biochem. Journ.*, 1925, **19**, 194).
- 119 WARBURG (O.) et NEGELEIN (F.). — Ueber die oxydation des Cystins und anderer Aminosäuren an Blutkohle. (*Bioch. Ztschr.*, 1921, **113**, 257).
- 120 WARBURG (O.) et SAKUMA (T.). — Ueber die sogenannte autoxydation des Cysteins. (*Pflüger's Arch.*, 1923, **200**, 203).
- 121 WIELAND (H.). — Ueber den Mechanismus der Oxydations Vorgänge. (*Ergebnisse der Physiol.*, 1922, **20**, 477).
- 122 WILLIAMS (R.-R.) et WATERMAN (R.-E.). — The tripartite nature of vitamin B. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1928, **78**, 311).
- 123 WURMSER. — Les problèmes biologiques — XV — Oxydations et Réductions. (*Les Presses universitaires de France.* Paris 1930).
-

TABLE DES MATIÈRES

PREMIÈRE PARTIE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU PHILOTHION

	Pages
CHAPITRE I. — <i>Historique avant la découverte du glutathion</i>	5
A - Le philothion de de Rey-Pailhade	5
B - Rôle des dérivés sulphydrylés	7
CHAPITRE II. — <i>Mise au point actuelle de la question</i>	11
A - Le glutathion	11
B - Généralités sur le pouvoir réducteur des dérivés sulphydrylés ..	13
C - Production de l'hydrogène sulfuré par les tissus d'après E. Sluiter	15
D - Glutathion et philothion	19
CHAPITRE III. — <i>Dosage d'une solution alcaline de sulfure par l'iode.</i>	21
A - Généralités sur les méthodes de dosage des sulfures à l'iode...	21
B - Essai de la méthode de Treadwell	23
C - Description de la technique employée dans ce travail. - Sa sensibilité	26
CHAPITRE IV. — <i>Description des techniques employées pour absorber l'hydrogène sulfuré</i>	29
A - Absorption à la pression atmosphérique.....	29
B - Absorption dans le vide	30
CHAPITRE V. — <i>Variations de la production d'hydrogène sulfuré</i>	35
A - Nature et quantité de soufre.....	35
B - Soude absorbante	37
C - Tissus utilisés. - Leur degré de division	37
D - Addition d'eau au tissu	38
E - Réaction du milieu.....	39
F - Influence de la température	41
G - Durée du dégagement	42
H - Production d'hydrogène sulfuré par un tissu non additionné de soufre	46
I - Différences entre les résultats obtenus dans le vide et à la pression atmosphérique.....	47
J - Sensibilité des dosages. - Erreurs.....	48
CHAPITRE VI. — <i>Recherches personnelles sur l'origine de la propriété hydrogénante des tissus sur le soufre</i>	51
A - Action des antiseptiques	51
B - Influence du chauffage préalable des tissus	56
C - Action de l'acide monoiodacétique.....	57
D - Action du citrate de sodium	58
E - Influence du vieillissement des tissus	59

	Pages
CHAPITRE VII. — <i>Résultats obtenus avec les tissus de différents animaux normaux</i>	61

DEUXIÈME PARTIE

APPLICATION DE LA TECHNIQUE ÉTABLIE A L'ÉTUDE DE L'AVITAMINOSE B

CHAPITRE VIII. — <i>Introduction</i>	65
CHAPITRE IX. — <i>Conduite des expériences</i>	68
A - Effets obtenus sur le poids et la température	68
B - Effets obtenus sur la teneur des tissus en glutathion	76
CHAPITRE X. — <i>Variations du pouvoir hydrogénant</i>	79
CHAPITRE XI. — <i>Philothion et glutathion dans l'inanition et l'avitaminose B</i>	81
<i>CONCLUSIONS</i>	83
<i>BIBLIOGRAPHIE</i>	87

